n°123

INRA mensuel

Dossier, juin 2005

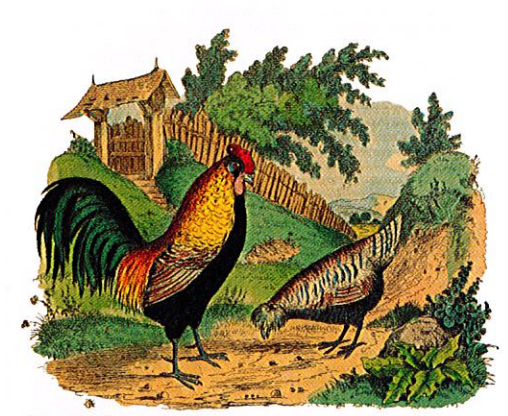
Les zoonoses

Recherches à l'INRA



Les zoonoses

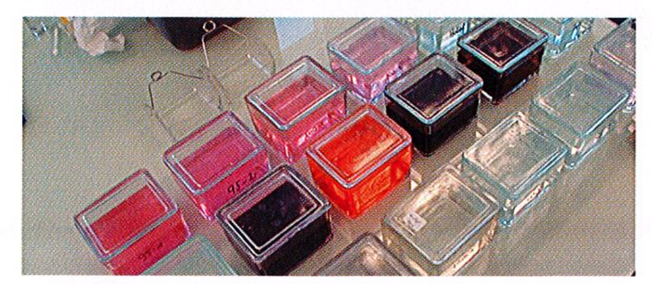
Recherches à l'INRA







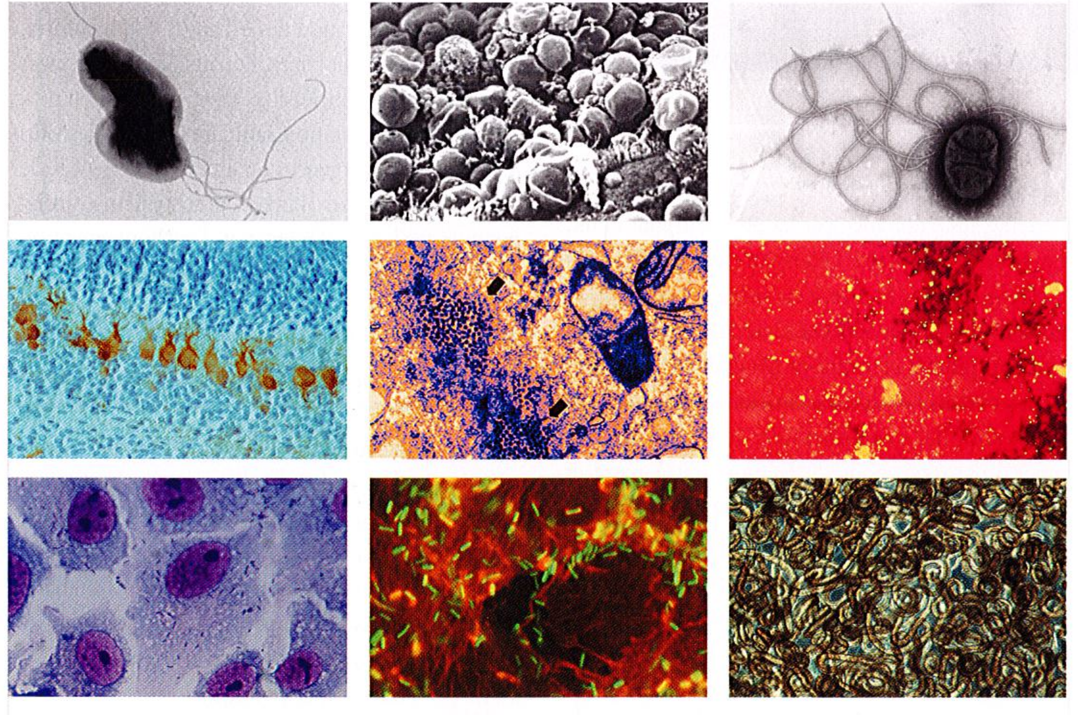
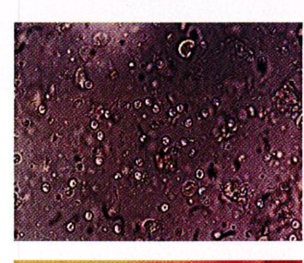
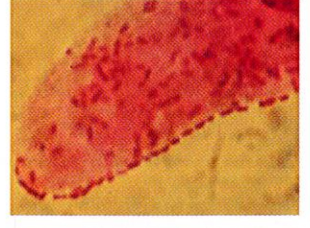
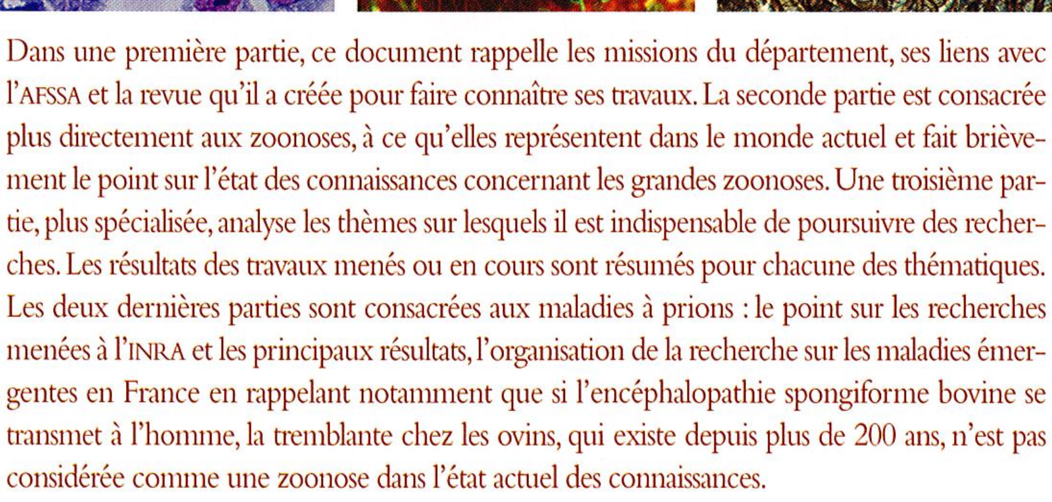




Les zoonoses
Recherches à l'INRA

Ce dossier est consacré aux recherches de l'INRA sur les maladies animales avérées ou potentielles qui se transmettent à l'homme ou zoonoses. Pourquoi un tel dossier ? Les zoonoses ne nécessitent pas d'approches spécifiques de recherche par rapport aux maladies animales *sensu stricto*. Toutefois, dans un climat social très sensible aux risques sanitaires, elles sont souvent sous les feux de l'actualité. Les maladies émergentes sont fréquemment des zoonoses du simple fait que les événements infectieux présentant un danger pour l'homme sont très surveillés. Ces maladies ont des incidences majeures pour l'économie des filières et en santé publique. Dès lors, elles constituent une thématique prioritaire pour de nombreux organismes. Enfin les zoonoses, par leur déterminant et leur impact, ont des implications dans les grandes orientations de l'INRA : agriculture durable, alimentation humaine, environnement. Il était donc important de faire un point sur ces thématiques de recherche à l'INRA. Pour autant, les maladies qui ne concernent que l'animal, comme les mammites, la fièvre aphteuse ou les parasites des animaux de rente... sont des sujets scientifiques qui restent étudiés à l'INRA.

Les zoonoses sont des infections (bactéries, virus, prions) et infestations (parasites proto- ou métazoaires) qui se transmettent naturellement des animaux vertébrés à l'homme et vice-versa (OMS, 1959 ; du grec *zôon*, être vivant et *nosos*, maladie). Le terme de zoonose comprend des maladies transmises directement entre animaux et hommes mais aussi indirectement via des arthropodes vecteurs (par exemple arboviroses) ou via des denrées alimentaires d'origine animale lorsque les animaux constituent des réservoirs identifiés des agents pathogènes concernés. (Voir partie 2).


Les auteurs et les légendes de ces illustrations sont repris tout au long du dossier.

Dans une première partie, ce document rappelle les missions du département, ses liens avec l'AFSSA et la revue qu'il a créée pour faire connaître ses travaux. La seconde partie est consacrée plus directement aux zoonoses, à ce qu'elles représentent dans le monde actuel et fait brièvement le point sur l'état des connaissances concernant les grandes zoonoses. Une troisième partie, plus spécialisée, analyse les thèmes sur lesquels il est indispensable de poursuivre des recherches. Les résultats des travaux menés ou en cours sont résumés pour chacune des thématiques. Les deux dernières parties sont consacrées aux maladies à prions : le point sur les recherches menées à l'INRA et les principaux résultats, l'organisation de la recherche sur les maladies émergentes en France en rappelant notamment que si l'encéphalopathie spongiforme bovine se transmet à l'homme, la tremblante chez les ovins, qui existe depuis plus de 200 ans, n'est pas considérée comme une zoonose dans l'état actuel des connaissances.

1 • Santé animale, santé publique

Contexte, enjeux stratégiques et perspectives

La santé animale a souvent été considérée dans le passé dans une acception assez réductrice de contrôle de certaines maladies d'élevage dans un hexagone sécurisé, où les principales maladies infectieuses semblaient maîtrisées. Les événements sanitaires de ces dernières années (ESB, fièvre aphteuse, peste porcine, SRAS, grippes aviaires) ont resitué le débat dans un monde globalisé où, à l'évidence, les questions de santé animale, de santé publique vétérinaire [1], d'alimentation et d'environnement sont interconnectées.



Photo : Christian Slagmulder

Préparation d'un milieu de culture ; maintien de la stérilité des boîtes de Pétri et de leur milieu gélosé par rayonnement UV. (PII, Tours).

La situation en France

La pathologie des différentes espèces d'animaux, dits de rente, reste dominée par les processus infectieux. La politique sanitaire vétérinaire des grands pays d'élevage, dont la France, a été basée sur des campagnes de prophylaxie souvent soutenues par des financements publics et associant généralement, dans le temps et dans l'espace, vaccination systématique et éradication des éventuels foyers de réintroduction, grâce à des mesures de déclaration, d'isolement et d'abattage, d'emploi massif d'anti-infectieux... Cette politique a permis l'élimination des grandes panzooties : peste bovine, fièvre aphteuse [2], péri-pneumonie contagieuse, peste porcine, peste aviaire, maladie de Newcastle, morve, rage... Ces succès spectaculaires ont sans doute abouti à une impression générale et erronée de sécurité. L'idée qui prévalait ainsi en la matière à la fin des **années 70** était que les mesures sanitaires applicables aux maladies réputées légalement contagieuses suffiraient à prévenir les effets de ces menaces les plus graves ; le travail de recherche devant alors être focalisé sur les troubles subsistants, d'étiologie souvent complexe, et sur d'éventuelles apparitions d'épizooties nouvelles, dont les filières animales et les laboratoires de surveillance et de diagnostic ne manqueraient pas de souligner la rémanence, l'émergence ou la ré-émergence. Cette politique sanitaire vétérinaire, très efficace à court terme, avait fait oublier que la situation sanitaire d'une population est le résultat d'un équilibre instable entre, d'une part, la pression combinée des systèmes de surveillance, de prophylaxie sanitaire et de recherche et, d'autre part, des facteurs pathologiques renouvelés.

Les **années 80 et 90** ont été marquées par de rapides évolutions, modifiant profondément les conditions d'apparition des maladies infectieuses : fond génétique des espèces d'élevage, systèmes d'élevage, modes d'alimentation et technologie alimentaire, urbanisation croissante et modification des écosystèmes de l'élevage, intensification des échanges commerciaux, nationaux et surtout internationaux. Tous ces facteurs sont considérés, associés aux "moins-disants" en matière de réglementation sanitaire, comme les plus propices aux émergences ou aux ré-émergences de maladies infectieuses animales potentiellement zoonotiques, via l'eau, l'alimentation, l'environnement ou la proximité de l'homme et des animaux.

Aujourd'hui, la France, pays carrefour en matière d'échanges d'animaux et de produits animaux, est intégrée dans une Europe dont les frontières de l'Est englobent désormais des zones où la protection sanitaire des produits et des populations animales demeure incertaine [3]. La production animale des pays asiatiques est amenée à se développer de façon considérable, induisant une intensification des échanges d'animaux et de produits animaux, mais aussi d'agents pathogènes et de gènes de résistance aux molécules utilisées à titre préventif ou thérapeutique.

La production avicole est celle qui a subi l'évolution la plus rapide : elle est aussi caractérisée depuis près de 4 décennies par l'apparition itérative de maladies nouvelles : coronaviroses, maladies tumorales, herpèsviroses, adénoviroses, birnaviroses, pneumoviroses, circoviroses, mycoplasmoses, ornithobactériose...

Il en va de même pour d'autres espèces animales : pestivirose et artérivirose porcines, taylorellose équine, septicémie hémorragique virale puis entérocolite enzootique du lapin, par exemple. L'encéphalopathie spongiforme bovine illustre bien ces évolutions [4]. Le retour de la rage, celui de la tuberculose bovine en Grande-Bretagne, à partir de réservoirs dans la faune sauvage, ou l'émergence de la fièvre catarrhale des

---

[1] La Santé publique et vétérinaire est l'ensemble des actions qui ont des rapports directs ou indirects avec les animaux ou leurs produits dérivés ou avec leurs maladies, dès lors que ces actions ont pour effet ou pour objet de conserver, protéger ou améliorer la santé publique, c'est-à-dire le bien-être physique, mental et social de la population (Conseil d'orientation et de formation Santé publique vétérinaire, 1er oct. 1997).

[2] Voir *INRA mensuel* n° 97 juin-juillet 1998 et n°109 mars-avril 2001.

[3] La politique des autres États de l'Union européenne est souvent dépourvue de mesures d'accompagnement indemnisatrices des abattages ; ce qui suscite une sous-déclaration ayant pour conséquence l'extension rapide des premiers foyers, devenus par leur taille, difficiles à maîtriser lorsqu'ils sont détectés. La réapparition épisodique de la fièvre aphteuse, de la péri-pneumonie bovine ou de la maladie de Newcastle des volailles, l'extension rapide de l'artérivirose porcine, illustrent ce risque au cours des dernières années.

[4] Voir un "Point" sur les ESB et maladies à prions *INRA mensuel* nos 101 et 110, la brochure DIC "Les ESST. Contribution de l'INRA" 1997, le compte rendu des Journées de Draveil de septembre 2000 et les parties 4 et 5 de ce dossier.

moutons dans le sud de l'Europe ou du West Nile Virus dans les deltas méditerranéens liées à des arthropodes-vecteurs plus abondants, illustrent la nécessité du lien à établir entre les préoccupations de santé animale et de santé publique et celles de l'environnement et de la gestion des territoires.

- La santé animale, une question toujours d'actualité

Les facteurs de santé animale (pathologie, prévention, thérapeutique, surveillance, protection douanière) sont des éléments déterminants de la compétitivité économique des filières. Les modes de production français sont variés (de l'extensif chez les ruminants, à l'extrême intensif pour les filières aviaires) et en constante évolution. Le développement de l'agriculture raisonnée, durable, jusqu'à l'élevage biologique, renouvelle la question de la santé animale. Les attentes en matière de diagnostic, pronostic, traitement prophylactique ou thérapeutique, de qualité des produits (résidus, contaminants biologiques ou toxiques) aux niveaux des individus, des troupeaux ou des populations, restent donc plus que jamais d'actualité.

- Également des implications en santé publique

Le contexte général des anti-infectieux est préoccupant : la résistance se généralise à de nombreuses familles d'antibiotiques et pour de nombreux pathogènes ; de même la résistance aux anthelminthiques s'installe, même vis-à-vis des endectocides les plus récemment mis sur le marché.

La sécurité biologique et chimique des produits alimentaires est parmi les toutes premières préoccupations des consommateurs et des gestionnaires du risque. Les contaminations biologiques et toxiques ont, pour une part notable, une origine dans la phase de production en amont ; ce qui milite pour un continuum entre santé des animaux, épidémiologie et évaluation du risque. Les zoonoses représentent donc des dangers permanents de santé publique émergents ou ré-émergents. Cette perception des dangers liés à des zoonoses, déjà très forte autour de l'aliment, se développe maintenant autour de la proximité animale ; les événements du SRAS ou de grippe aviaire en sont des exemples récents. À ces enjeux incontournables touchant l'agriculture, l'alimentation et l'environnement, il faut maintenant associer des préoccupations de bioterrorisme agricole, vétérinaire et alimentaire.

- Des choix de recherche et d'organisation

Les enjeux économiques et de santé publique imposent le développement d'un dispositif de recherche performant en santé animale pour la France, premier pays agricole de l'Union européenne, et parmi les leaders mondiaux de la production, de la transformation et des échanges d'animaux ou de produits animaux. Ce dispositif de recherche doit être capable de s'attacher à de nombreux objets : agents pathogènes et vecteurs très variés : virus, bactéries, parasites, micromycètes, agents transmissibles non conventionnels (ATNC), arthropodes, faune domestique (poissons, oiseaux, mammifères), faune urbaine (notamment canins, félins, rongeurs, oiseaux commensaux des agglomérations et des décharges) et faune sauvage. Les disciplines impliquées doivent permettre d'aborder des niveaux d'organisation du plus élémentaire au plus complexe, allant de la biologie structurale (prions, xénobiotiques, virus) et de la physiologie (immunologie) à la dynamique des populations (épidémiologie). À ces grands domaines disciplinaires, il convient de rajouter la pharmacologie, l'emploi des médicaments restant l'une des méthodes les plus employées et souvent les plus efficaces pour contrôler, voire prévenir des maladies animales. Par ailleurs, la toxicologie reste un domaine essentiel pour la santé animale, d'une part parce que les maladies toxiques animales peuvent constituer des problèmes pathologiques graves, mais aussi pour des

Des relations plus approfondies entre l'INRA et l'AFSSA

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments a en charge la gestion de l'expertise permettant d'évaluer les risques sanitaires notamment alimentaires. Elle réalise aussi des recherches en lien avec ces missions.
Les relations de l'INRA avec l'AFSSA en Santé animale sont nombreuses, délimitées par des missions spécifiques, parfois complémentaires, dévolues aux deux organismes. L'INRA a déjà contractualisé avec l'AFSSA dans des unités mixtes de recherche concernant des étiologies très importantes : UMR INRA-ENVA-AFSSA, université 956 BIPAR (parasitologie et mycologie, laboratoire de référence sur la Trichinellose), UMR ENVA-INRA-AFSSA 1161 Virologie (laboratoires de référence sur la fièvre aphteuse et les virus émergents). Les chercheurs et les enseignants-chercheurs du département Santé animale participent très significativement aux comités d'experts de l'AFSSA. Inversement, des chercheurs de l'AFSSA participent à diverses instances de l'INRA. Le travail collectif réalisé sur les données d'ESB est un exemple de la richesse potentielle de la collaboration entre l'INRA, la DGAL et l'AFSSA. De telles collaborations avec la DGAL sont d'ailleurs identifiées dans la convention-cadre récemment signée entre le ministère en charge de l'Agriculture et l'INRA.
Un lien plus fort avec l'AFSSA est essentiel si l'on souhaite aboutir à l'identification en France d'un ensemble de recherches coordonné et reconnu en santé animale et santé publique vétérinaire, comme l'a recommandé le rapport de Paul-Pierre Pastoret sur l'état des recherches en santé animale en France (2003). Cette coordination entre l'INRA et l'AFSSA permettra notamment une plus grande proximité entre recherche et laboratoires de référence et missions d'appui scientifique et technique. L'engagement dans les UMR témoigne de cette volonté partagée par les organismes. Une réflexion collective a été mise en place en 2004 sous l'égide de la direction scientifique Animaux et Produits animaux pour aboutir à une coordination scientifique et un partenariat entre l'INRA et la direction des laboratoires de l'AFSSA, formalisée par une convention-cadre entre les organismes. Il s'agit de fonctionner plus en partenariat qu'en répartition des domaines couverts.
Depuis 2004, des groupes de travail ont été créés avec l'AFSSA afin de déterminer les éléments nécessaires à une meilleure coordination, les thématiques d'intérêts, les synergies à renforcer et les manques à combler.
Une convention-cadre entre l'INRA et l'AFSSA est en préparation.

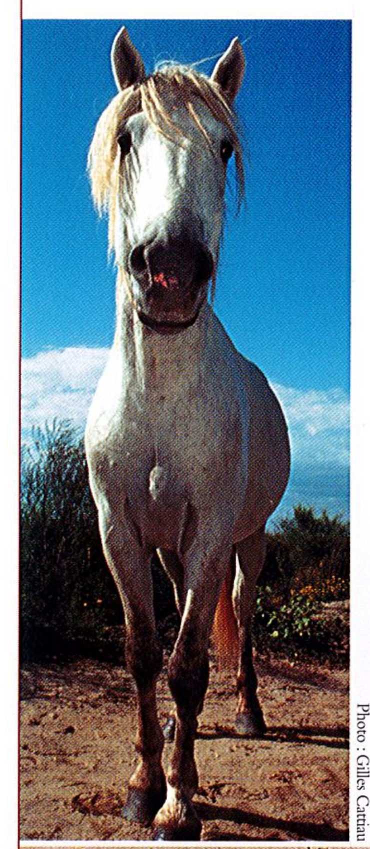
Groupes de travail avec l'AFSSA :
•Maladies bactériennes, risques microbiologiques alimentaires •Risques toxiques alimentaires •Analyse de risque •Antibio-résistance •Maladies à prions •Virologie •Mycoplasmologie •Parasitologie •Épidémiologie •Immunologie et vaccinologie •Alimentation animale.



Photo : Jean Weber

préoccupations de toxicité humaine des xénobiotiques médicamenteux ou pesticides, via l'aliment ou l'environnement.

La proximité entre ces disciplines apparaît évidemment essentielle et doit s'inscrire dans une communauté scientifique qui doit aussi trouver un lien avec le monde médical, la surveillance et le contrôle des maladies ainsi que l'évaluation du risque, lien souvent très affirmé dans d'autres pays à forte tradition de recherche, dans lesquels on observe une concentration et une intégration très fortes. Or, en France, l'offre de recherche en microbiologie et toxicologie (les agents, le diagnostic), en physio-pathologie (le pronostic), en pharmacologie et vaccinologie (les traitements) et aide à la décision (épidémiologie) reste dispersée.


Photo : Gilles Cattiau

Dans ce dispositif de recherche et d'expertise, qui va de l'épidémio-surveillance, des laboratoires de référence à la recherche fondamentale, les zoonoses émergentes ou persistantes, restent des priorités affichées et soutenues par l'ensemble des partenaires, il convient impérativement de dépasser ici le champ strict de l'alimentation pour s'attacher aussi aux entités pathologiques animales liées à l'environnement au sens large : écosystèmes ruraux, échanges mondiaux d'animaux, de produits animaux, de vecteurs et de réservoirs, environnement urbain, contexte professionnel ou domestique. Une prospective sur le thème des maladies des animaux et des plantes est en cours à l'INRA.

Enfin, la recherche d'une coordination et d'un rapprochement entre les différents acteurs de recherche en santé animale apparaît comme déterminante pour une meilleure lisibilité et pour aborder efficacement la diversité des thématiques touchant à la santé des animaux et la santé publique vétérinaire. La capacité de l'INRA à s'engager sur des entités pathologiques majeures de façon significative comme les grippes animales en coordination avec ses partenaires, projets en cours d'étude, sera l'expression de la pertinence de nos choix scientifiques.

Des premiers qui amenerent à Rome des Cheuaux aquatiques, & des Crocodiles : & des raiſons Medecinales inuentees par le moyen deſdits animaux.

20 CHAP. XXVI.

MArcus Scaurus, és ieux qu'il fit luy eſtant Edile, fut le premier qui dõna le plaiſir aux Romains d'vn Cheual d'eau, & de cinq Crocodiles, qu'il tint en vn canal d'eau qu'il auoit fait faire expres, pour faire durer ſeulement ce plaiſir autant que ſes ieux. Au reſte, [d] les Cheuaux aquatiques ont monſtré la leçon aux Medecins en quelque endroit. Car quand ils ſont ſaouls, & qu'ils ſe ſentent trop gras, ils cerchent à bord de riue où on a couppé des roſeaux. Et voyant quelque tronc de canne bien pointu il ſe iette de flanc deſſus pour ſe poindre quelque veine de la cuiſſe, afin de ſe faire ſaigner. Au moyen de quoy ſe trouuant allegé, & cognoiſſant quand il a aſſez perdu de ſang, il rebouſche ſa playe de limon.

d Voyez Solinus ſur ce. e Ces oiſeaux ſont entierement noirs, & vn peu moindres que Courlis: auſſi les appelle on Cigognes

40 Ces cheuaux ont vne Amble ſi doux, qu'on les void par les chemins plier les Iarrets l'vn apres l'autre ſi doucement, qu'on diroit que on les a mis aux cordes: ce qu'à la verité on fait. Finalement [i] les cheuaux ſont ſubiects quaſi aux meſmes maladies que les hommes: & d'auantage, ont quelquesfois la veſſie tournee en deſſus deſſoubs, comme auſſi ont par fois toutes beſtes à baſt.

lib. 3. k s'eſtoyent piecesdites autrement Seſterces, qui valoyẽt deux liures & de-

L'histoire du monde de C. Pline second, collationnée et corrigée sur plusieurs vieux exemplaires latins, tant imprimés qu'écrits à la main... Par Antoine du Pinet. Éditeur Robert Foüet, Paris, rue Saint-Jacques, 1615.

Gilles Aumont, chef de département
Jean-Pierre Lafont, chargé de mission au ministère de l'Éducation nationale, de l'Enseignement supérieur et de la Recherche

Et la grippe aviaire... une zoonose exemplaire

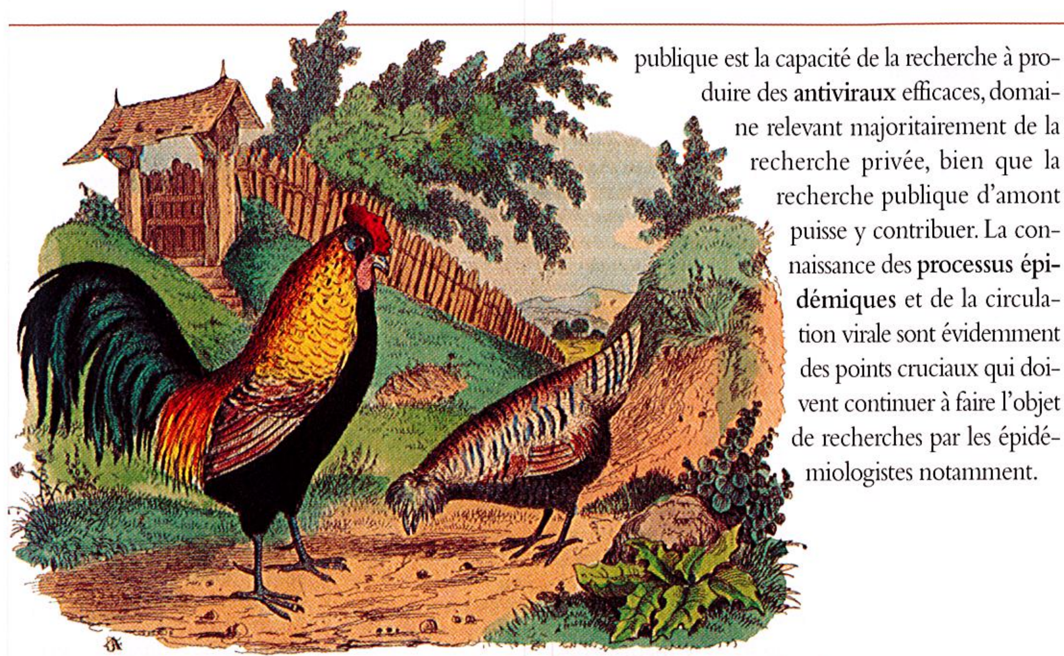
Les virus de la grippe aviaire représentent un problème majeur en termes de **santé publique** et de **santé animale**. Ils sont transmis à partir du réservoir constitué par les oiseaux aquatiques sauvages à d'autres espèces telles que le porc, les volailles ou l'homme. La circulation virale (d'origine aviaire en particulier) est continue et particulièrement intense en Asie du Sud-Est, gros producteur-consommateur de volailles et de porcs.

La grippe reste l'une des plus importantes maladies épidémiques virales de l'homme. Contrairement à d'autres maladies, la grippe est causée par des virus qui évoluent continuellement par mutation et par réassortiment de leurs segments géniques. De plus, ces virus sont présents dans la nature à travers un vaste réservoir animal (faune aviaire, notamment aquatique) [1]. En conséquence, les épidémies et les pandémies sont très probables et l'éradication reste un objectif beaucoup plus difficile à atteindre que pour la rougeole ou la poliomyélite par exemple. À ce jour, 15 sous-types différents d'hémaglutinine (HA) ont été identifiés chez les virus aviaires et de mammifères. Tous les sous-types sont présents chez les oiseaux sauvages. Seuls les virus qui portent les HA de sous-type HA1, HA2, HA3 se sont établis avec succès chez l'homme, provoquant chaque fois une pandémie majeure (H1 en 1918, H2 en 1957, H3 en 1968). Les menaces sont donc très importantes mais pas nouvelles. Les grandes crises d'Influenza ont existé de tout temps : grippe espagnole de 1918 qui aurait fait plus de 20 millions de morts (chiffre de l'Institut Pasteur) par exemple. En revanche, la multiplicité des échanges de produits animaux et les brassages de population rendent évidemment les risques beaucoup plus importants. Dans le même temps, nos connaissances et nos moyens de lutte ont aussi fortement progressé.

- Quelques données

Lors de l'épidémie de grippe aviaire en Hollande en 2003 (H7N7), 453 personnes ont présenté des symptômes fébriles et 59% des séro-conversions avec quelques cas de transmission inter-humaine (familiale). Seules des conjonctivites ont été notées avec un cas mortel, mais dont l'étiologie doit être réellement analysée. Dans le cas de crises, les travailleurs de filière sont les premiers soumis à vaccination car ils sont effectivement les premières victimes.

Il est probable que le virus de la grippe circulait déjà en Chine avant la crise de 2004. À cette occasion, il a été souvent évoqué une transmission au porc de ce virus aviaire mais la preuve formelle d'une réplication n'a pas été réellement apportée bien que des porcs aient été signalés comme porteurs. Un cas de transmission inter humaine est détecté mais de tels cas ne sont toujours pas réellement avérés. En revan-



publique est la capacité de la recherche à produire des **antiviraux** efficaces, domaine relevant majoritairement de la recherche privée, bien que la recherche publique d'amont puisse y contribuer. La connaissance des **processus épidémiques** et de la circulation virale sont évidemment des points cruciaux qui doivent continuer à faire l'objet de recherches par les épidémiologistes notamment.

che, dès 2004, des cas de grippe H5N1 féline (chats, tigres et panthères dans des zoos) ont été confirmés.

Début avril cette année, l'OMS a enregistré, depuis fin janvier 2004, 80 cas humains de grippe aviaire (A/H5N1), dont 50 mortels (35 au Vietnam, 12 en Thaïlande, 3 au Cambodge) soit une très grande pathogénicité, si l'on suppose que la déclaration des cas séropositifs donne une image réaliste. Le Vietnam, la Thailande, l'Indonésie, la Chine, le Cambodge, et les Corées sont les pays les plus touchés sur le plan animal. Actuellement le développement de l'épidémie de grippe dans le Sud Est asiatique a conduit depuis 2004 à l'abattage de millions de poulets et de palmipèdes.

- Les questions posées à la recherche agronomique et médicale

Actuellement l'abattage des volailles est préconisé en Europe et en France sur la base de la pathogénicité des virus identifiés. L'Office International des Epizooties (OIE) a des projets de modifications substantielles de cette réglementation en changeant la définition de l'influenza aviaire. La notion de zone mais aussi de compartiment serait ajoutée, avec autorisation de vaccination. La notion de zone indemne impliquerait aussi les virus non pathogènes, conduisant à une restriction de la circulation des animaux et des produits aviaires. La réglementation européenne continuera probablement à privilégier, pour les cas d'influenza aviaire hautement pathogènes, la séquestration et l'abattage. Toutefois, des zones de surveillance et de protection sont définies permettant probablement à terme des stratégies raisonnées d'abattages préventifs, voire de vaccinations pour les zones extérieures. La **vaccination** redevient donc une question pertinente en termes de recherche. Les stratégies vaccinales concernant essentiellement l'homme et des modèles animaux pertinents (porc) restent évidemment d'actualité. Enfin, dans le cas d'une pandémie, une des questions déterminantes en termes de santé

- Les structures de recherches

Les équipes travaillant sur la grippe sont très nombreuses dans le monde et particulièrement concentrées dans certains centres internationaux ou nationaux spécialisés. Ces recherches, adossées à des réseaux de surveillance, ont déjà permis de mettre en place des réseaux d'alerte, des méthodes de lutte vaccinale humaine ou animale, très réactives par rapport à la variabilité des entités de grippe. Les enjeux de ces recherches sont la mise au point de méthodes de contrôle vaccinales et médicamenteuses nécessaires en cas de crise, y compris dans le cas de pandémie. En France, les forces de recherche sont limitées par rapport aux enjeux. En matière de grippes animales, l'AFSSA étudie les grippes aviaires et est en charge d'un laboratoire de référence. L'Institut Pasteur est évidemment un acteur déterminant de la recherche, avec des visées humaines essentiellement. L'Influenza aviaire fait l'objet de projets européens dans le cadre du 6ème PCRD et très probablement de financements dans le prochain 7ème PCRD. Des équipes universitaires travaillent notamment en matière d'épidémiologie. Avec ses partenaires, l'INRA réfléchit à ce que pourrait être son orientation thématique sur ces étiologies grippales en tenant compte de ses programmes de génomique sur des espèces-cibles du virus de la grippe, ses équipes de recherche en virologie et en immunologie des animaux de rente, ses implications dans la génomique des interactions hôte-pathogène et la constitution du pôle d'infectiologie de Tours, notamment la plate-forme d'infectiologie expérimentale. Deux axes principaux seraient envisageables : la virologie fondamentale et la réponse de l'hôte, notamment chez le porc et l'oiseau.

Le développement des recherches sur les virus grippaux ne pourra être mené à l'avenir que dans des structures autorisées à utiliser des agents dangereux ; ce qui circonscrit les unités aptes à se mobiliser autour de tels programmes. ■

Gilles Aumont, Abdenour Benmansour
Département Santé animale

Selon le Dictionnaire pittoresque...

MALADIES (phys. et agric.) :
Les maladies sont le partage de tous les êtres : l'homme, les animaux et les plantes sont condamnés à payer un funeste tribut à la douleur. Cette situation pénible est l'effet d'une altération dans l'ordre régulier des fonctions vitales ; elle résulte aussi d'habitudes nées d'une forme vicieuse de la société, imposées par la violence, mantenues par la routine, et dont la fâcheuse influence s'est étendue de l'homme, d'une part, sur les animaux associés à son existence actuelle, de l'autre, sur les végétaux qu'il oblige à une culture plus ou moins bien raisonnée. De la sorte, outre les maladies inséparables de la vie, nous en avons appelé que ni les uns ni les autres n'auraient connues dans l'état de nature. [...]

D'après le *Dictionnaire pittoresque d'histoire naturelle et des phénomènes de la nature*, rédigé par une société de naturalistes, sous la direction de M. F.-E. Guérin, avec planches gravées sur acier d'après les dessins de MM. De Sainson et Fries. Tome quatrième, 1836. Paris, Au bureau de souscription, rue Saint-Germain-des-Prés, n°4.

Illustration : coq, même référence "Dictionnaire pittoresque...", tome deuxième 1835.

[1] La notion de passage "obligé" par le porc, mise en évidence avec le virus H3N2 de 1968, doit être relativisée à la lumière des connaissances acquises sur la pandémie de 1957 et l'apparition de virus "aviaires" nouveaux en 1997, 1999, et 2003.
Le virus H5N1 isolé en 2004 semble avoir des caractères de pathogénicité et de diffusion supérieurs aux virus isolés précédemment. Ce virus présente des caractéristiques qui font de lui un danger pour la santé humaine et animale, et sa diffusion connue dans l'espèce porcine renforce l'intérêt que portent les épidémiologistes à son évolution.

La grippe aviaire est également évoquée dans ce dossier dans l'introduction de Gilles Aumont, dans la première partie de Jean De Rycke et par Jean-Michel Elsen au sujet de la reconversion d'équipes INRA des coronavirus aux maladies à prions.

Les missions du département Santé animale

Ce département est en charge de l'animation des équipes se consacrant aux sciences de la santé des animaux et de la santé publique vétérinaire. Il existe un lien fort avec le département Microbiologie de la Chaîne alimentaire dont les équipes de bactériologistes, qui se consacrent à l'étude des bactéries pathogènes des animaux, sont intégrées dans les unités du département Santé animale.

• Activités

Elles ont des implications pour chacune des grandes orientations de l'INRA : agriculture, alimentation et environnement. Il a pour mission de produire des connaissances sur les agents pathogènes, sur la réaction de l'hôte et sur les maladies animales ayant valeur de modèle. Il anime également les recherches en pharmacologie et en épidémiologie animales pour élaborer des méthodes de prévention et de contrôle des maladies qui affectent les animaux d'élevage, réduisant la compétitivité des élevages et la qualité des produits. Il s'agit également de contribuer à la sécurité sanitaire des consommateurs et des citoyens par l'appréciation des risques infectieux et toxiques ayant pour origine l'aliment ou l'environnement. Cette communauté de recherche de l'INRA doit aussi être en mesure d'appuyer la décision publique dans le domaine de la santé publique vétérinaire. En Europe, avec la prise de conscience induite par les crises sanitaires successives, on assiste à un renforcement significatif et coordonné des dispositifs de recherche et de surveillance en santé animale. *A contrario*, en France, l'offre de recherche en santé animale et santé publique vétérinaire reste dispersée entre différents organismes. Faisant suite aux missions d'analyse de son dispositif diligentées par l'INRA, le Schéma stratégique de département a pour ambition de promouvoir la constitution d'un dispositif de recherche pertinent et coordonné en santé animale et en santé publique vétérinaire en France.

• Thématiques

La politique du département vise à développer l'excellence scientifique, gage de la reconnaissance internationale, la structuration de son expertise et à renforcer l'organisation de son partenariat scientifique et économique. Les grandes thématiques finalisées portent sur les zoonoses, les maladies virales et parasitaires, sur les contaminants infectieux et toxiques alimentaires et environnementaux. Les orientations scientifiques et les choix méthodologiques font appel à la biologie cellulaire et à la biologie structurale lorsqu'il s'agit d'étudier les interactions hôte/agent pathogènes. L'immunologie "générique" et la modélisation de la dynamique des processus morbides sont aussi des orientations fortes du schéma stratégique de département. Les thématiques sont articulées autour de 3 champs :



Photo : Gérard Paillard

• Agents pathogènes : bio-agresseurs et agresseurs chimiques
• Réponses de l'hôte aux agresseurs
• Épidémiologie, dynamique des processus morbides, dynamique des agents pathogènes.

• Implantations

Le département de Santé animale, essentiellement implanté sur 6 sites (Jouy-en-Josas, Tours, Nantes, Clermont-Ferrand, Lyon et Toulouse) dont les 4 écoles vétérinaires (ENV), est constitué de 5 unités de recherche propres, 16 UMR (avec la DGER, l'AFSSA, le CNRS, les universités), 5 unités expérimentales et 5 unités associées avec des universités et l'Institut Pasteur. Il regroupe environ 330 chercheurs (150 INRA, 180 chercheurs et enseignants-chercheurs d'autres organismes). Une des orientations majeures consiste à inciter le collectif à s'appuyer sur des équipes de masse critique suffisante, plus structurées sur les disciplines ou questions biologiques que sur les étiologies, les interactions entre disciplines se faisant au niveau des unités et du département. Cette dynamique doit favoriser l'émergence de pôles lisibles coordonnés avec l'émergence de plateformes (UE de Tours, biologie intégrative de Jouy-en-Josas). Il s'agira notamment de conforter l'organisation des équipes des unités du centre de Tours en concentrant des forces en immunologie plus fondamentale et en parasitologie moléculaire et cellulaire. La coordination des équipes de virologie se fait en réseau à partir des unités du centre de Jouy-en-Josas. Les unités de pharmacologie et de toxicologie du centre de Toulouse sont incitées à une plus grande coordination entre elles et avec leurs partenaires. Le champ thématique consacré à l'épidémiologie est développé dans les centres de Nantes et de Clermont, animé par un conseil scientifique commun et une recherche de consolidation dans l'accès aux données.

• Une nouvelle organisation

En contrepartie de cette dynamique visant au renforcement de l'excellence scientifique, l'expertise, la veille et l'information scientifiques en santé animale et santé publique vétérinaire seront organisées au sein d'un bureau, relevant du département. Par ailleurs, il sera recherché une optimisation des compétences à partir de centres de ressources réorganisés :

• les unités expérimentales, en particulier celles de Tours qui accueilleront les Installations Nationales Protégées pour la Recherche sur les EST, et qui devront être rénovées et trouver un équilibre budgétaire ; les unités expérimentales du département Santé animale sont spécialisées dans les dispositifs confinés et sont ouvertes à l'ensemble des départements de l'INRA et de la communauté scientifique nationale selon des modalités identiques
• une unité d'expertise et de recherche en anatomie pathologique, basée sur des unités de l'ENV de Nantes
• un bureau de la démarche qualité, avec pour objectifs en sus de ceux de l'INRA, la certification d'UE et de certaines activités de laboratoire.

• Partenariats

Les actions partenariales visent à une structuration et une formalisation avec les principaux acteurs en santé animale et santé publique vétérinaire, notamment l'AFSSA, le CIRAD-EMVT et la DGAL. Il s'agit d'aboutir à une coordination scientifique et thématique et à une intensification des liens entre recherche et laboratoire de référence, gage d'une plus grande efficacité des recherches mais aussi d'une reconnaissance auprès de la communauté internationale notamment en matière de maladies infectieuses. À noter qu'une convention lie la DGAL et l'INRA en matière d'épidémiologie animale. Sur le plan international, il s'agira de stimuler une recherche efficace intra-communautaire en santé animale et santé publique vétérinaire si possible formalisée avec nos partenaires impliqués, tout en renforçant les relations contractuelles avec des pays à économie émergente.

• Formation

Au travers de ses UMR, notamment dans les ENV, des Instituts fédératifs de recherche (IFR) et de ses liens avec les Écoles doctorales, le département contribue à la formation par la recherche aux disciplines dont il a la charge : microbiologie et parasitologie, infectiologie, immunologie, pharmacologie et toxicologie, épidémiologie animale. ■

Veterinary Research est un périodique scientifique international soutenu par le département Santé animale qui publie des articles dans le domaine de la pathologie infectieuse. Depuis plusieurs années, il se situe, par son facteur d'impact, en tête des revues directement concurrentes (4e sur 129 revues).

Veterinary Research publie régulièrement des **numéros spéciaux thématiques** constitués d'articles de synthèse rédigés par les spécialistes internationaux des sujets traités :
• 1999 : *Escherichia coli* pathogènes des animaux
• 2001 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les pathogènes animaux et zoonotiques
• 2002 : Parasitisme des herbivores : évolution des pratiques d'élevage et du contrôle de l'environnement
• 2003 : Mammites des ruminants producteurs de lait
• 2004 : Maladies infectieuses du cheval
• 2005* : Zoonoses bactériennes émergentes ou ré-émergentes. L'objectif de ce numéro est de mettre l'accent sur les facteurs spécifiques qui expliquent l'émergence ou la ré-émergence de certaines zoonoses et de montrer dans quelle mesure ces facteurs ont conduit à des modifications au niveau de la biologie du pathogène, de la démographie et du comportement des hôtes animaux ou humains et/ou de l'écologie des réservoirs et des modes de transmission. Il a également été demandé aux auteurs d'analyser la manière selon laquelle les nouvelles données sur les maladies et le pathogène a des répercussions sur les méthodes de diagnostic et les stratégies de contrôle. Nous nous sommes intéressés plus particulièrement aux zoonoses transmises par les animaux de rente ou leurs produits (salmonelloses, colibacillose due à *E. coli* O157, brucellose, fièvre Q, campylobactériose), aux zoonoses transmises par les animaux de compagnie (infections zoonotiques provoquées par les bartonelles), à celles transmises par les animaux sauvages et/ou l'environnement (tuberculose, peste, tularémie) et à celles transmises par les tiques (rickettsioses, borréliose). Un article analysera plus spécialement le problème des zoonoses bactériennes émergentes liées à l'état d'immunodépression, et enfin un article sera consacré à la surveillance et au contrôle des zoonoses émergentes et ré-émergentes. Par ailleurs, certaines de ces maladies ont une importance toute particulière dans le contexte international du bioterrorisme (brucellose, tularémie). *Joëlle Charley-Poulain*, co-rédacteur en chef de *Veterinary Research*

*** Emerging or re-emerging Bacterial Zoonoses**
Jean De Rycke (Rédacteur invité) et Bruno Chomel (UC Davis, USA, co-rédacteur en chef de VR)

1. Zoonoses transmitted by farm animals or their products Emergence of *Salmonella* epidemics: The problems related to *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and to multiple antibiotic resistance in other major serotypes, Philippe Velge, Axel Cloeckaert and Paul Barrow Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission, Alfredo Caprioli, Stefano Morabito, Hubert Brugère, Éric Oswald
From the discovery of the Malta fever's agent to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a re-emerging zoonoses Jacques Godfroid, Axel Cloeckaert, Jean-Pierre Liautard, Stephan Kohler, David Fretin, Karl Walravens, Bruno Garin-Bastuji, Jean-Jacques Letesson
Is Q Fever an emerging or re-emerging zoonosis? Nathalie Arricau-Bouvery, Annie Rodolakis
Campylobacter, Deborah Corcoran, James SG Dooley, Séamus Fanning, Brigid Lucey, Motoo Matsuda, David A. McDowell, Francis Mégraud, B. Cherie Millar, John E. Moore, Rebecca O'Mahony, Michele O'Rourke, Juluri R. Rao, Andrew Sails and Paul Whyte

2. Zoonoses transmitted by pets
Emergence of zoonotic *Bartonella* infections, Henri-Jean Boulouis, Chao-chin Chang, Jennifer B. Henn, Rickie W. Kasten and Bruno B. Chomel

3. Zoonoses transmitted by wildlife and/or the environment
Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium*-intracellulare complex (MAC), Franck Biet, Maria Laura Boschiroli, Marie Françoise Thorel, Laurence A. Guilloteau
From the recent lessons of the Malagasy foci towards a global understanding of the factors involved in plague reemergence, Jean-Marc Duplantier, Jean-Bernard Duchemin, Suzanne Chanteau and Élisabeth Carniel
Tularemia: Emergence/Re-emergence, Jeannine M. Petersen and Martin E. Schriefer

4. Tick and bacterial zoonoses
Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses, Philippe Parola, Bernard Davoust and Didier Raoult

5. Surveillance of emerging or re-emerging bacterial zoonoses
Emerging or re-emerging bacterial zoonoses: factors of emergence, surveillance and control, Jean Blancou, Bruno B. Chomel, Albino Belotto, François Xavier Meslin

2. Les zoonoses émergentes... et les autres



Renards (détail). Dictionnaire pittoresque d'histoire naturelle et des phénomènes de la nature. Tome huitième, rédigé par une société de naturalistes sous la direction de F.-E. Guérin. Paris Au bureau de souscription n°4, 1839.

Quelques définitions d'abord

Prion et vache folle, Bacille du Charbon et bioterrorisme, virus influenza de la grippe aviaire, virus du West-Nile, *E.coli* O157 ou bactérie tueuse des hamburgers... ces mots résonnent à l'esprit de chacun car ils ont fréquemment fait l'actualité ces dernières années. Ces agents pathogènes ont au moins deux points communs :

- d'être potentiellement responsables de **zoonoses**
- d'être qualifiés d'**émergents** ou de **ré-émergents**.

Ces termes de base n'étant pas toujours employés à bon escient, il paraît indispensable en préambule d'en donner une définition acceptable par les spécialistes.

Que sont les zoonoses ? Les zoonoses sont des infections (bactéries, virus, prions) et infestations (parasites proto- ou métazoaires) qui se transmettent naturellement des animaux **vertébrés** à l'homme et vice-versa (OMS, 1959 ; du grec *zôon*, être vivant et *nosos*, maladie). Il est erroné d'étendre la signification du terme de "zoonose" à celle de "maladie des animaux", comme on le voit quelquefois dans certains écrits de non-spécialistes ! Le terme de zoonose comprend des maladies transmises **directement** entre animaux et hommes mais aussi **indirectement** via des arthropodes vecteurs (par exemple arboviroses) ou via des denrées alimentaires d'origine animale lorsque les animaux constituent des réservoirs identifiés des agents pathogènes concernés. Certaines grandes infections humaines ont une origine animale, comme le SIDA qui provient du singe, mais elles ne sont pas qualifiées de zoonoses car l'agent pathogène responsable de la maladie humaine a évolué de telle manière qu'il est devenu strictement spécifique à l'homme.

Quand émergent ou ré-émergent-elles ? Une zoonose est dite **émergente** si elle apparaît dans une population où elle n'avait jamais été identifiée précédemment et **ré-émergente** si son incidence, dans une population où elle était connue mais contenue, augmente de nouveau significativement [1]. L'émergence se rapporte concrètement à une population-cible, considérée à risque, souvent géographiquement circonscrite, et sur laquelle l'incidence est "techniquement" mesurable. Elle ne peut donc être dissociée d'un contexte spatial (par exemple transmission locale à partir des réservoirs animaux de la faune sauvage, ou au contraire globale par les denrées alimentaires d'origine animale exportées), voire sociologique et médical (cas des zoonoses professionnelles, des zoonoses affectant essentiellement les patients immunodéprimés). (voir également l'encart sur l'action transversale Epiemerge et le site correspondant).

Quel est l'impact global des zoonoses en santé publique ?

Si la majorité des maladies infectieuses émergentes sont des zoonoses... L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et le Center for Diseases Control and Prevention (CDC) évaluent à plus de 50 environ le nombre de pathogènes nouveaux identifiés chez l'homme depuis 30 ans, et 60% d'entre eux environ sont à l'origine de zoonoses [2]. Certains de ces agents présentent un risque élevé pour la santé publique, à cause de leur agressivité pour l'homme ou de leur pouvoir de diffusion. Une trentaine d'espèces bactériennes et à peu près autant de familles de virus responsables de zoonoses font ainsi l'objet d'une surveillance médicale et sanitaire attentive. (voir tableau **0**). En dehors de ces pathogènes majeurs, on ne doit pas perdre de vue que sur quelque 1415 pathogènes recensés chez l'homme, 61% peuvent être à l'origine de zoonoses [3]. Ces chiffres donnent une idée de l'ampleur de la "pression zoonotique" qui s'exerce potentiellement sur l'homme. Les zoonoses ont un impact sanitaire, social et économique très inégal et l'importance de chacune doit être appréciée par la fréquence, la gravité de la maladie chez l'homme, le risque d'amplification ultérieure par contagion inter-humaine, la nature et la

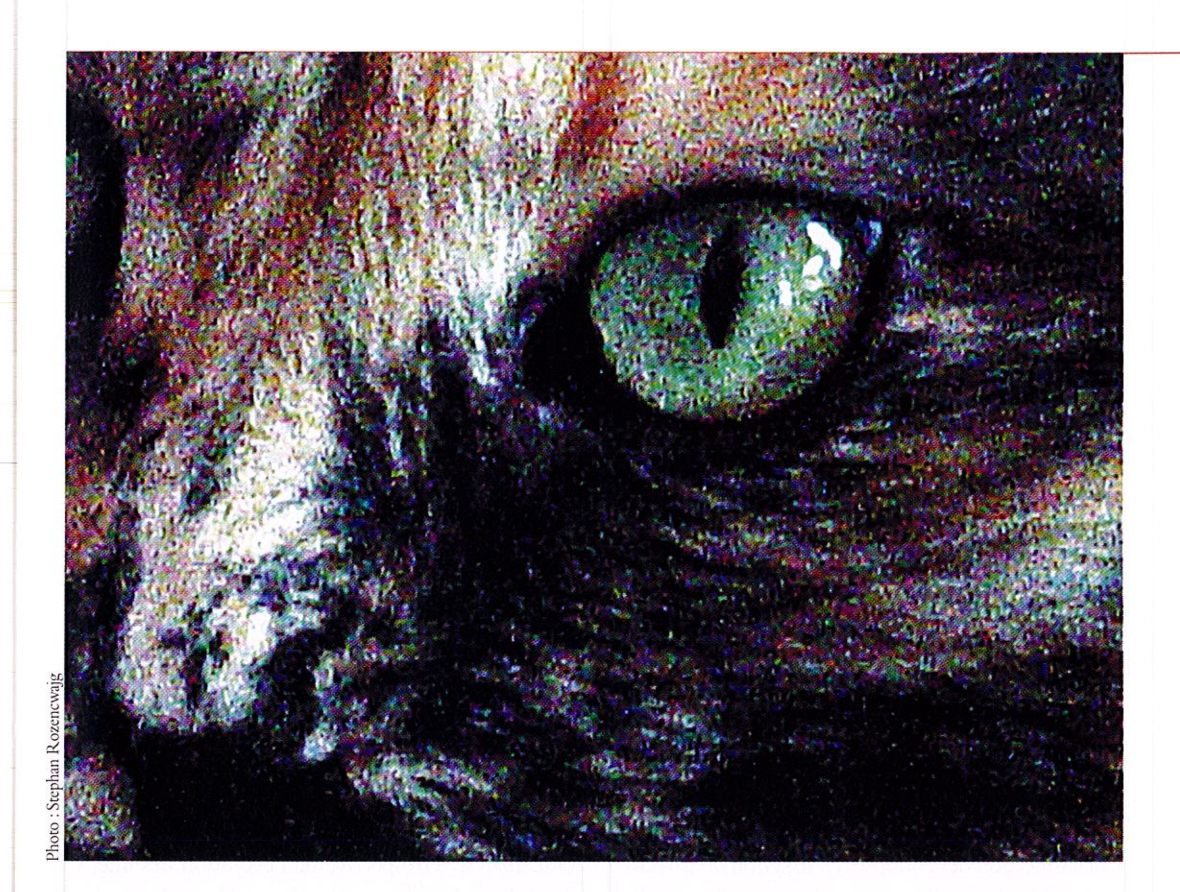


Photo : Stephan Rozencwajg

grandeur des populations-cibles (ou qui courent le risque de l'être), l'extension géographique, le coût de la prévention et de la surveillance épidémiologique et l'impact sociétal (incluant notamment les conséquences de l'application du principe de précaution). Ces critères, qui, le plus souvent, ne sont pas corrélés entre eux, peuvent servir de base à la définition des priorités en santé publique et en recherche. Pour le financement de la recherche, les choix ne sont pas simples car on peut hésiter entre accorder la priorité à des agents émergents, dangereux au plan médical et susceptibles d'extension rapide (exemple des variants des grippes aviaires), à des agents classiques largement répandus dont la gravité médicale est moindre mais dont le coût de prévention et de surveillance est élevé (exemple des zoonoses alimentaires bactériennes), ou bien encore à des agents dont l'impact réel sur la santé publique est minimal mais auquel s'applique de manière rigoureuse le principe de précaution (exemple de l'ESB et variant de la maladie de Creutzfeld-Jakob).

... leur impact médical est globalement très inférieur aux maladies infectieuses non zoonotiques. L'importance réelle d'une zoonose n'est pas forcément liée à son caractère émergent ou ré-émergent mais bien à son impact réel sur la santé publique ou sur la société dans ses diverses composantes. Ainsi, des statistiques récentes de l'OMS [4] indiquent que les trois zoonoses les plus mortelles au plan mondial sont des zoonoses classiques non répertoriées comme émergentes, même si dans le détail leur épidémiologie est toujours en évolution. Il s'agit de la rage (40 à 60.000 morts par an), de la fièvre jaune (30.000) et de l'encéphalite japonaise (18.000 à 20.000), trois maladies virales qui n'ont d'ailleurs pas d'impact significatif en Europe. Pour relativiser l'impact global des zoonoses sur la mortalité humaine, il convient aussi de comparer ces

1 Exemples de zoonoses d'intérêt majeur

Nature de l'agent	Nom	Réservoirs majeurs	Distribution géographique
• Zoonoses majeures toujours fréquentes			
Virus	Rage	Carnivores, Chauves-souris	Mo
Virus	Fièvre jaune	Singes	Af
Virus *	Encéphalite japonaise	Oiseaux	As
Bactérie	Brucellose	Ruminants	Mo
Bactérie**	Salmonellose	Ruminants, Poulets	Mo
Bactérie	Charbon bactéridien	Herbivores	Mo
Parasite	Echinococcoses	Chiens, Renards	Mo
Parasite	Toxoplasmose	Chats	Mo
• Zoonoses majeures ayant ré-émergé ces quinze dernières années			
Virus*	Fièvre de la vallée du Rift	Ruminants	Af
Virus*	Fièvre du Nil occidental	Oiseaux	Af-AmN-Eu
Virus*	Fièvre à tiques de la forêt de Kyasanur	Singes	As
Virus	Variole du singe	Singes, Rongeurs	Af - AmN
Virus	Fièvres hémorragiques Ebola, Marburg	Singes ? Chauves-souris ?	Af - AmN
Bactérie*	Peste	Rongeurs	Af-As-Am
Bactérie	Leptospirose	Rongeurs	Mo
Parasite*	Leishmania	Chiens	Bm, PO, AmS
• Zoonoses majeures ayant émergé ces trente dernières années			
Virus	Syndrome respiratoire à Hantavirus	Rongeurs	AmN
Virus	Encéphalites à morbillivirus (Nipah, Hendra)	Chauves-souris	As-Au
Bactérie**	*Escherichia coli* O157	Ruminants	AmN-Eu
Bactérie**	*Campylobacter jejuni*	Poulets	Mo
Bactérie	*Bartonella henselae* (maladie des griffes du chat)	Chats	Mo
Bactérie*	*Borrelia burgdoferi* (maladie de Lyme)	Ruminants sauvages	AmN -Eu
Parasite**	*Cryptosporidium* (entérite)	Ruminants domestiques	Mo

Nature de l'agent : * agent pathogène transmis par arthropode vecteur ; ** agent pathogène transmis par aliment d'origine animale. Distribution géographique : Mo : Mondiale, Af : Afrique, As : Asie, Am : Amérique (AmN : du Nord, AmS : du Sud), Eu : Europe, Au : Australie, Bm : Bassin méditerranéen, PO : Proche Orient.

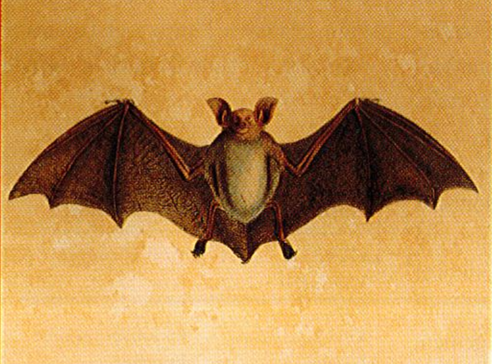
chiffres avec les 14,7 millions de morts provoqués en 2001 chez les enfants et les jeunes adultes par l'ensemble des causes infectieuses : 78% de cette mortalité est expliquée par 5 types d'affections au rang desquelles ne figure nommément aucune zoonose. Il s'agit des infections respiratoires (3,9 millions de cas), du SIDA (2,9), des maladies diarrhéiques (1,9), de la tuberculose (1,6) et du paludisme (1,1). Évidemment de tels chiffres pourraient être bouleversés si une zoonose mortelle sévissait sous forme pandémique, comme cela a été le cas dans les années 1918-1919 où l'épidémie mondiale de grippe espagnole, dont les experts pensent qu'elle a eu pour origine un virus influenza d'origine aviaire provenant de Chine, aurait provoqué 40 millions de morts sur 200 millions de personnes atteintes.

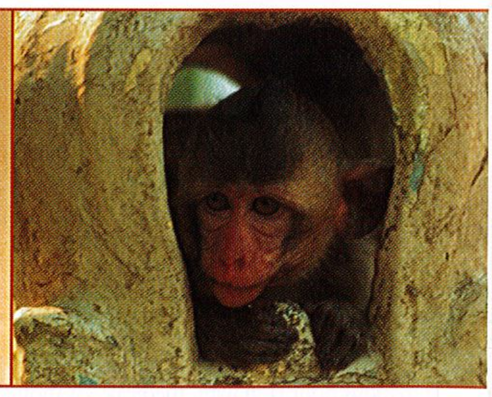
Animaux domestiques et animaux de la faune sauvage : où sont les coupables ?

La classification des zoonoses en fonction de la nature des principaux réservoirs animaux, même si elle est trop simplificatrice, permet d'appréhender les grandes modalités de transmission des agents zoonotiques et leurs facteurs d'émergence.

De gauche à droite :
- musaraigne. Photo : Michel Pascal
- La chauve-souris murin. Œuvres complètes de Buffon, suivies de ses continuateurs Buffon et Daubenton, Planches. Tome III, mammifères. A Bruxelles, chez Th. Lejeune, librairie-éditeur. 1833.
- singe en Thaïlande. Photo : Jean Weber
- renardeau. Photo : René Canta
- cochon Landrace. Photo : Christophe Maître
- ovin Mérinos d'Arles. Photo : Gilles Cattiau







❷ Importance relative des principaux agents de zoonoses transmis par les aliments d'origine animale et par l'eau en Europe et aux USA

Agent	Europe : nombre de cas humains notifiés en 2002 [1]	USA incidence pour 100.000 en 2002 [2]
Salmonella enterica NT	150.000	16,2
Campylobacter jejuni	150.000	13,3
Yersinia enterocolitica	10147	0,45
Escherichia coli EHEC	2664	1,8
Brucella sp.	2386	NR
Listeria monocytogenes	860	0,26
Toxoplasma gondii	477	NR
Trichinella spiralis	48	NR

Sources : [1] European Commission. Trends and sources of zoonotic agents in animals, feedingstuffs, food and man in the European Union and Norway in 2002. EC Health and Consumer Protection Directorate-General;
[2] Foodnet annual report for 2002 (http://www.cdc.gov/foodnet/annual/2002/2002executive_summary.pdf)

Les animaux de rente sont à la source des infections d'origine alimentaire. Les animaux de rente sont les réservoirs majeurs des pathogènes transmis par voie alimentaire, c'est-à-dire par les denrées alimentaires d'origine animale ou par l'eau. Parmi la trentaine d'agents pathogènes identifiés, les agents zoonotiques sont très souvent de nature bactérienne (exemples : *Campylobacter*, *Salmonella*, *Escherichia coli* entérohémorragique) ou parasitaires (exemples : *Cryptosporidium*, *Echinococcus*, *Trichinella*), mais, beaucoup plus rarement, de nature virale (tableau ❷). Cette rareté des virus à l'origine de zoonoses dans les aliments contraste avec le fait que l'agent le plus fréquemment associé aux gastro-entérites d'origine alimentaire est un calicivirus (norovirus) dont le spectre d'hôte est limité à l'homme (plus de 20 millions de cas recensés annuellement aux USA). Sachant que la trentaine d'agents pathogènes déjà identifiés ne rendent compte que d'environ 20% des cas d'infections alimentaires présumées, on peut en conclure que beaucoup d'agents restent encore à identifier, y compris peut-être des virus de nature zoonotique [5].

Une analyse rétrospective de l'évolution des infections d'origine alimentaire depuis deux décennies permet de dégager deux grandes tendances :

- une augmentation très significative de la fréquence des cas déclarés d'infections d'origine alimentaire, associée à un changement graduel des agents pathogènes retrouvés dans les denrées, observations qui pourraient traduire un mouvement de fond mais qui sont susceptibles d'être biaisées par l'amélioration continue de la surveillance sanitaire ainsi que de la détection et du typage moléculaire des agents pathogènes

- une diffusion plus large de certains pathogènes à partir des sources animales ou alimentaires contaminées, due à deux facteurs conjugués : la concentration des industries alimentaires ou des sélectionneurs de certaines filières (exemple de la filière avicole pour *Salmonella Enteritidis*) et l'élargissement, voire l'internationalisation des marchés. Il résulte de cette large dispersion des pathogènes à partir de sources ponctuelles une multiplication de cas sporadiques de maladies dont le lien épidémiologique ne peut être reconstitué qu'à condition de disposer de méthodes de typage moléculaire adaptées et de réseaux nationaux, voi-

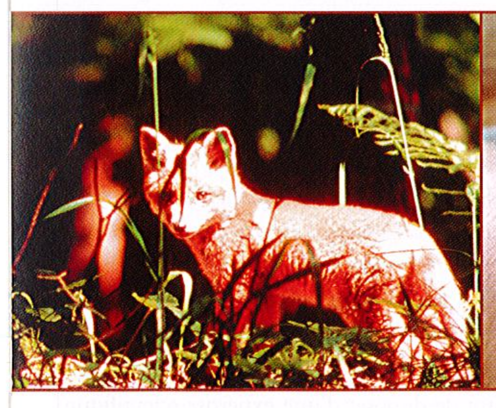
re transnationaux, d'information épidémiologique (EnterNet pour l'Europe, PulseNet pour les USA).

La faune sauvage constitue un fonds sans doute très riche d'agents potentiellement zoonotiques. Parmi les zoonoses émergentes de ces quinze dernières années figurent des maladies virales capables de provoquer des symptômes graves, voire mortels, chez l'homme et qui ont en commun d'avoir un réservoir animal appartenant à la faune sauvage. Il s'agit par exemple des nouveaux Hantavirus des rongeurs à l'origine de syndromes pulmonaires de l'homme évoluant sur un mode endémique aux USA depuis 1993 et le paramyxovirus Nipah responsable d'épisodes épidémiques d'encéphalites mortelles chez l'homme en 1998 en Malaisie et dont le réservoir primitif est constitué par des chauves-souris frugivores, les porcs servant de relais pour l'homme. Les facteurs d'émergence des zoonoses liées à la faune sauvage sont de nature écologique ou climatique et résultent le plus souvent de l'intervention humaine. Ils provoquent des changements dans la distribution géographique et la densité des réservoirs animaux, ou mettent fortuitement l'homme en contact avec des réservoirs animaux nouveaux, augmentant ainsi considérablement les probabilités de contact. Le réchauffement global de la planète pourrait avoir une responsabilité importante dans la ré-émergence ou l'extension géographique de certaines maladies transmises par des arthropodes vecteurs (notamment pour les arboviroses comme la fièvre du Nil Occidental). Compte tenu de la multiplicité et de la plasticité génétique des agents pathogènes potentiels (voir aussi plus loin), toute intervention humaine susceptible de modifier les rapports entre les populations animales sauvages d'un côté et l'homme et ses commensaux domestiques de l'autre, porte donc en puissance un risque d'apparition de nouvelle maladie par franchissement des barrières d'espèces. Ce risque ne se limite pas aux zoonoses et concerne également les maladies uniquement animales et tout particulièrement celles qui affectent la faune sauvage, lesquelles sont susceptibles de modifier significativement la biodiversité en provoquant des mortalités de masse dans des populations naïves (qui n'ont jamais été en contact avec l'agent pathogène), voire l'extinction définitive de ces populations [6, 7].

Un pathogène peut-il devenir zoonotique ?

On a vu plus haut que les agents pathogènes potentiellement zoonotiques sont extrêmement nombreux. Le risque associé à cette pression zoonotique est encore amplifié par la grande plasticité genétique des micro-organismes, plasticité qui renforce les opportunités d'adaptation à de nouveaux hôtes et d'exaltation du pouvoir pathogène chez les hôtes habituels. Ainsi, l'aptitude supérieure des virus à ARN [1] à franchir la barrière d'espèces (comme le montre à l'évidence la liste des zoonoses virales émergentes de ces trente dernières années) s'expliquerait-elle par le fait que ces virus ont un taux de mutation spontané 300 fois supérieur à celui des virus à ADN [1]. Certains virus appartenant à une même famille mais ayant des hôtes différents, comme ceux de l'influenza, sont capables d'échanger leurs gènes lorsqu'ils infectent fortuitement les mêmes cellules, créant ainsi par réassortiment génétique des virus chimères hypervirulents

[1] Virus à ARN ou à ADN : micro-organisme non cellulaire constitué essentiellement d'une molécule d'acide nucléique ARN ou ADN
• virus à ARN : virus dont l'acide nucléique est un ARN
• virus à ADN : virus dont l'acide nucléique est un ADN.
D'après "Glossaire de génétique moléculaire et génie génétique", INRA Éditions, 1991.







A. M. Rossignol*
Paris, le 25 mai 1881

Monsieur,
Nous partirons samedi à 11h55 pour aller inoculer par le virus charbonneux très virulent un mouton vacciné et un non vacciné.
Nous y retournerons le lendemain pour répéter les mêmes inoculations afin qu'il y ait mardi un mouton mort et un mourant ou deux morts, mais l'un deux au moins mort depuis 24h au plus.
Je vous prie de faire faire sans retard des fosses à l'endroit désigné. Si l'inoculé de samedi mourait après 36 heures, il faudrait le déposer dans une des fosses, le recouvrir de paille et la fosse de planches, de façon à ce que des mouches ne puissent l'approcher. L'autopsie sera faite mardi au bord de la fosse. La deuxième fosse servira à recevoir le second mort sans qu'il y ait à le faire séjourner dans la bergerie. Il ne faut pas que, mardi 31**, on expose les visiteurs à des piqûres charbonneuses. Le sang qui pourrait être répandu dans la bergerie avant la mort ou au moment de la mort sera lavé à l'eau bouillante avant leur arrivée.
Enfin, je vous prie de faire le transport de la bergerie à la fosse avec une civière recouverte d'un plateau de zinc ou fer blanc à rebords de 5 à 6 centimètres de hauteur.
Agréez, je vous prie, l'assurance de mes sentiments les plus distingués.

L. Pasteur

* M. Rossignol, vétérinaire à Melun et rédacteur de la *Revue vétérinaire*, avait eu l'initiative de l'expérience de vaccination contre le charbon.
** On devait inoculer, ce jour-là, le microbe très virulent à tous les moutons, vaccinés et non vaccinés, ce qui devait faire apprécier l'efficacité des inoculations préventives des 5 et 17 mai.

D'après Pasteur. Correspondance réunie et annotée par Pasteur Vallery-Radot. L'étape des maladies virulentes. Virus-vaccins du choléra des poules, du charbon, du rouget, de la rage. 1877-1885 Ed. Flamarion, 1951, 456 p., pages 195-196.

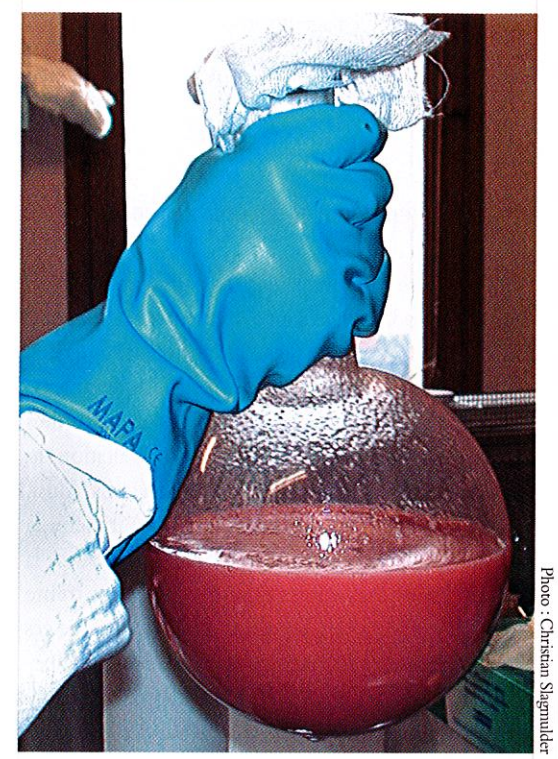


Photo : Christian Slagmulder

Préparation du milieu de culture Rambach, utilisé pour le diagnostic différentiel des salmonelles. La gélose est fondue au bain-marie pour éviter d'atteindre une température supérieure à 80°C.

capables d'atteindre de nouveaux hôtes : c'est ce qui explique le risque pour la santé publique de l'extension de la grippe aviaire en Chine, le franchissement de la barrière d'espèces pouvant dans ce cas déboucher sur une nouvelle pandémie catastrophique pour l'humanité, comme celle des années 1918-20.

Chez les bactéries, des mécanismes spécifiques d'évolution ont été également mis à jour, par exemple pour *Escherichia coli* entérohémorragique (type O157 : H7), bactérie très pathogène chez l'homme et transmise en particulier par la viande bovine. L'émergence de ce variant pathogène résulte de l'acquisition récente, probablement dans les années 1970, par des *E. coli* non pathogènes du tube digestif, de gènes de virulence exogènes transmis en bloc par des phages bactériens ou par d'autres éléments génétiques transférables horizontalement entre bactéries. Ces gènes figurent à présent dans le génome bactérien sous la forme d'îlots génétiques de virulence stabilisés. Des mécanismes similaires de transfert génétique horizontaux rendent compte de l'acquisition de la multirésistance aux antibiotiques chez des bactéries responsables d'infections alimentaires telles que *Salmonella* et *Campylobacter*.
Ces exemples montrent que chez les agents pathogènes l'évolution du pouvoir pathogène peut se faire, non seulement par une évolution graduelle classique résultant de mutations ponctuelles, mais aussi par sauts qualitatifs rapides. La souplesse d'adaptation et le rythme de l'évolution des micro-organismes étant évidemment beaucoup plus rapides que ceux des hôtes, notamment des vertébrés, il est pertinent de se demander si les parades expérimentales visant à modifier durablement la réceptivité de ces hôtes, par exemple au moyen de la sélection génétique, ne sont pas inévitablement vouées à l'échec.

Conclusion : encore des terrains vierges pour la recherche

Comme le présente ce numéro, le thème des zoonoses entre dans les priorités de l'INRA à un titre principal, celui de la sécurité sanitaire des denrées alimentaires d'origine animale, puisque la grande majorité des agents responsables d'infections alimentaires sont zoonotiques. Dans ce domaine, la recherche doit viser à mieux connaître les déterminants du pouvoir pathogène et du portage (génétique de la virulence de *Escherichia coli* entérohémorragique, *Salmonella Enteritidis* et de *Listeria monocytogenes*, pathogénie de *Trichinella spiralis*) et à identifier des marqueurs moléculaires qui améliorent le typage et la traçabilité des pathogènes (*Coxiella burnetii*, *Brucella sp.*, *Bartonella sp.*) et de leurs résistances aux antibiotiques (*Salmonella*, *Campylobacter*) et à analyser les cycles épidémiologiques (*Listeria monocytogenes*). Elle contribue également à la découverte des agents émergents en liaison avec les réseaux de surveillance et à évaluer sur des bases expérimentales ou épidémiologiques l'éventuel risque pour l'homme d'agents considérés comme potentiellement zoonotiques (*Mycobacterium paratuberculosis* et maladie de Crohn). Ce risque est également analysé pour des virus non alimentaires (virus de Borna ; paramyxovirus respiratoire syncitial bovin). Un autre secteur de recherche, plus réduit en taille, est consacré, à l'INRA, à l'épidémiologie des zoonoses associées à la faune sauvage (virus du Nil occidental, et maladies vectorisées par les tiques). L'étude du franchissement de la barrière d'espèces par des pathogènes intéressant uniquement les animaux est également d'un grand intérêt pour mettre à jour des mécanismes moléculaires pertinents pour les zoonoses (lentivirus). La conduite de ces recherches permet à l'Institut de disposer d'une expertise scientifique très riche qui peut être mise au service de l'analyse de risque en liaison avec les institutions en charge de la gestion de ce risque.
Même si les risques de zoonoses liés à la faune sauvage concernent moins les pays très industrialisés de l'hémisphère nord, il est permis de se demander si notre implication ne pourrait pas être plus importante dans le domaine très riche, mais encore relativement peu exploré, des réservoirs de pathogènes de la faune sauvage. Le développement de ce champ de recherche permettrait de gagner en expertise non seulement dans l'évaluation du risque pour l'homme et les animaux domestiques, mais aussi pour la biodiversité animale. Quelles que soient les priorités affichées par notre Institut, l'évolution continue des pathogènes et des facteurs de leur émergence, souvent liés à l'activité humaine, réserve au chercheur encore bien des découvertes intéressantes.

Jean De Rycke,
Pathologie infectieuse et Immunologie, Tours

[1] Woolhouse, MEJ. 2002. Population biology of emerging and re-emerging pathogens. *Trends Microbiol.* 10 (10 suppl) S3-S7.

[2] Feldmann H. et *al*, 2002. Emerging and re-merging infectious diseases. *Med. Microbiol. Immunol.* 191 : 63-74.

[3] Cleaveland S. et *al*, 2001. Diseases of humans and their domestic mammals : pathogen characteristics, host range and the risk of emergence. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 356 : 991-999.

[4] *World Health Organization. Communicable diseases 2002* : global defence against the infectious disease threat (Editor: MK Kindhauser). Geneva, 2003. www.who.int/infectious-disease-news/cds2002/index.html

[5] Tauxe R.V., 2002. Emerging Foodborne Diseases. *Int. J. Food Microbiol.* 78 : 31-41.

[6] Daszak P. et *al*, 2000. Emerging infectious diseases of wildlife. Threats to biodiversity and human health. *Science.* 287 : 443-449.

[7] Woolhouse MEJ. et *al*, 2001. Population Biology of multihost pathogens. *Science.* 292 : 1109-1112.

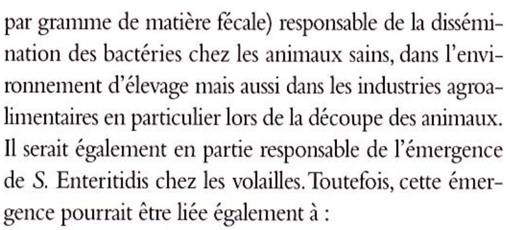
Nous faisons ici une brève synthèse des connaissances sur quelques-unes des zoonoses avérées ou potentielles étudiées à l'INRA ainsi que sur les recherches en cours.

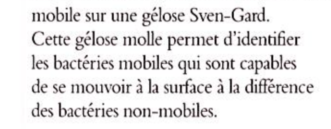
Zoonoses avérées

La Salmonellose

Philippe Velge, Anne-Christine Lalmanach, Isabelle Virlogeux-Payant, Olivier Grépinet, Élisabeth Bottreau, Jérôme Trotereau, Pierrette Menanteau,
UR 918 Pathologie infectieuse et Immunologie, Tours
équipe Contaminations microbiennes des matières premières alimentaires d'origine animale







Photos : Jacques Dufrenoy

Colonie de *Salmonella enteritidis* faiblement mobile sur une gélose Sven-Gard. Cette gélose molle permet d'identifier les bactéries mobiles qui sont capables de se mouvoir à la surface à la différence des bactéries non-mobiles.

Les contaminations alimentaires représentent un enjeu de santé publique mais également économique car la qualité sanitaire des aliments sert souvent de "barrière commerciale" non tarifaire. La sécurité sanitaire des aliments est donc une préoccupation majeure des pouvoirs publics.

Les contaminations microbiennes lors de la transformation des matières premières peuvent être maintenant limitées par des procédés (pièces blanches, c'est-à-dire stériles...) développés de manière importante dans les ateliers agro-alimentaires. Le problème de la recontamination des aliments dans les industries agro-alimentaires est désormais mieux maîtrisé et c'est la matière première, en particulier d'origine animale, qui devient l'une des principales sources de contamination microbienne des filières alimentaires. Dans l'Union européenne, malgré la baisse observée entre 1999 et 2001, la majorité des cas de toxi-infections alimentaires est liée aux salmonelles et aux Campylobacters [6].

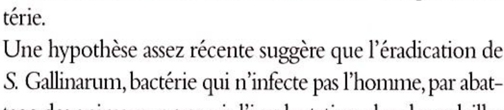
Chez l'homme et les animaux, les salmonelles peuvent être responsables, selon leur sérotype (2500 sont décrits actuellement), d'une colonisation intestinale avec absence de symptôme ou d'une infection généralisée, parfois mortelle, en passant par une gastro-entérite. Parmi la sous-espèce *Salmonella enterica enterica*, seule pathogène pour l'homme, nous ne parlerons [1] que des sérotypes *S.* Enteritidis et *S.* Typhimurium, responsables à elles seules, de près de la moitié des toxi-infections alimentaires collectives en France [2]. En effet, deux éléments majeurs sont apparus dans la deuxième moitié du XXeme siècle : l'émergence d'infection à *S.* Enteritidis liée à la consommation de produits à base d'œufs et l'apparition des souches de *S.* Typhimurium multi-résistantes aux antibiotiques [9].

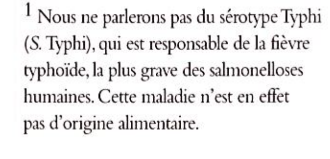
Ces deux sérotypes peuvent être responsables de pathologies digestives graves chez les sujets âgés, très jeunes ou présentant un trouble des défenses immunitaires. Les œufs et les produits à base d'œufs (mayonnaises en particulier) sont les principaux aliments incriminés, avec les viandes de volailles [3]. Les répercussions économiques de la contamination alimentaire par des *Salmonella* sont d'autant plus élevées que leur détection est en aval de l'élevage, c'est-à-dire au niveau de la chaîne de production, de transformation et de commercialisation du produit. La prévention la plus efficace de la maladie humaine consisterait à réduire, voire à supprimer, la contamination des matières premières alimentaires. Ainsi, la maîtrise des risques en amont de la chaîne (donc chez les animaux) est un enjeu économique et de santé publique. Toutefois, la contamination des animaux est difficilement prévisible en raison de l'absence de symptômes, tout particulièrement chez les volailles hébergeant durablement les salmonelles dans leur tube digestif (portage asymptomatique). Ce portage peut entraîner une excrétion fécale importante (de 10 à plus de 10^7 bactéries par gramme de matière fécale) responsable de la dissémination des bactéries chez les animaux sains, dans l'environnement d'élevage mais aussi dans les industries agroalimentaires en particulier lors de la découpe des animaux. Il serait également en partie responsable de l'émergence de *S.* Enteritidis chez les volailles. Toutefois, cette émergence pourrait être liée également à :

- une modification des conditions d'élevage
- l'introduction de la bactérie via les rongeurs que l'homme a essayé d'éradiquer en les infectant par *S.* Enteritidis
- l'acquisition de nouveaux facteurs de virulence par la bactérie.

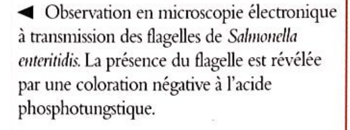
Une hypothèse assez récente suggère que l'éradication de *S.* Gallinarum, bactérie qui n'infecte pas l'homme, par abattage des animaux, a permis l'implantation chez les volailles de *S.* Enteritidis qui infecte l'homme [9].

Afin de pouvoir mieux éradiquer la bactérie chez l'homme et les animaux, une meilleure compréhension des mécanismes de virulence et de persistance de *Salmonella* chez son hôte est nécessaire. Les facteurs de virulence de *Salmonella* sont relativement bien connus [4]. Ils sont codés par des gènes présents sur le chromosome ou portés par le plas-





[1] Nous ne parlerons pas du sérotype Typhi (*S.* Typhi), qui est responsable de la fièvre typhoïde, la plus grave des salmonelloses humaines. Cette maladie n'est en effet pas d'origine alimentaire.



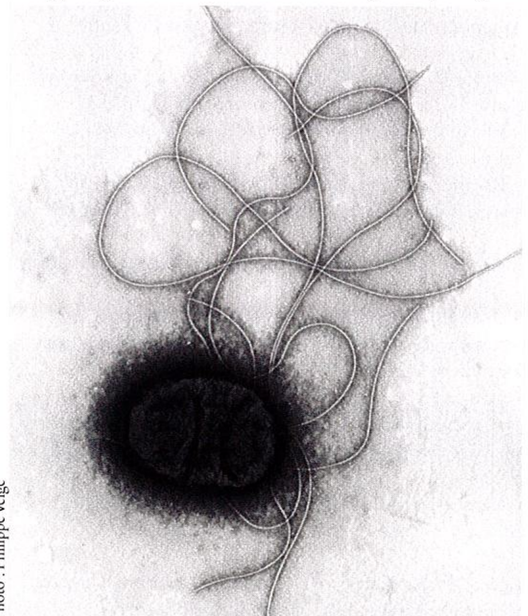


Photo : Philippe Velge

◄ Observation en microscopie électronique à transmission des flagelles de *Salmonella enteritidis*. La présence du flagelle est révélée par une coloration négative à l'acide phosphotungstique.

▼ Observation en microscopie électronique à transmission des pili de *Salmonella enteritidis*. La présence de pili est révélée par une coloration négative à l'acide phosphotungstique.

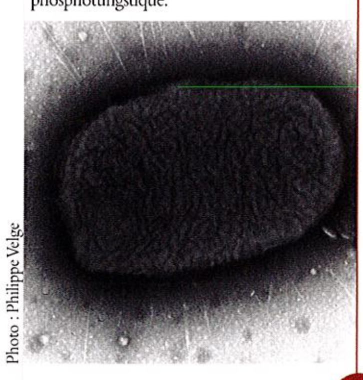


Photo : Philippe Velge

mide de virulence. Ces gènes proviennent souvent d'un transfert horizontal entre bactéries. En effet, les études montrent actuellement que certaines bactéries non virulentes peuvent acquérir en une fois le matériel génétique capable de les rendre virulentes [5]. Par contre, les facteurs ainsi que les mécanismes impliqués dans le portage asymptomatique sont extrêmement mal connus.

La contamination d'un hôte par les salmonelles se fait essentiellement par voie orale. L'intestin est le lieu privilégié de la colonisation et de la persistance des bactéries chez l'animal. Deux étapes-clés caractérisent cette interaction : l'attachement aux cellules intestinales et phagocytaires et la pénétration dans ces cellules. Les salmonelles sont en effet des bactéries intracellulaires facultatives.

- Les recherches en cours

Les travaux menés par les équipes visent à comprendre les rôles respectifs du pouvoir d'attachement et d'entrée de *S.* Enteritidis dans le portage intestinal aviaire, mais aussi les mécanismes de régulation des facteurs de virulence des salmonelles afin de déterminer si le portage est lié à la diminution de l'expression de facteurs de virulence ou à l'expression de facteurs bactériens spécifiques au portage [1]. Ainsi, est analysé le rôle d'une région génétique, capable de moduler les facteurs de virulence et commune aux salmonelles et à certains *Escherichia coli* pathogènes.

La contamination des volailles est principalement observée lors de la première semaine après l'éclosion, quand la réponse immune et la flore intestinale des poussins sont encore immatures. Dans ce contexte, sont analysés les facteurs immunitaires de l'hôte impliqués dans le portage et en particulier les facteurs de la réponse innée capables de bloquer l'entrée de la bactérie au niveau de l'intestin : rôle des peptides anti-microbiens et des composants de la réponse inflammatoire [8]. Cette approche permet d'étudier, avec le département de Génétique animale et des partenaires européens, l'héritabilité et la base fonctionnelle du caractère de résistance au portage asymptomatique de *S.* Enteritidis afin de pouvoir sélectionner des lignées de poulets résistants ou de concevoir des stratégies d'éradication des *Salmonella* chez les volailles [7].

Enfin, parce qu'il s'agit de deux organismes vivants qui entrent en conflit, le dialogue moléculaire qui s'instaure entre la salmonelle et la cellule-cible de l'hôte, est analysé, la réponse de l'un influant sur la réponse de l'autre.

[1] Amy, M., P.Velge, D. Senocq, E. Bottreau, F. Mompart, and I.Virlogeux-Payant. 2004. Identification of a new *Salmonella enterica* serovar Enteritidis locus involved in cell invasion and in the colonisation of chicks. *Res Microbiol* 155:543-52.

[2] Bouvet, P., and P. Grimont. 2001. Données de surveillance 1999 du centre national de référence des *Salmonella* et *Shigella. Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire* 12:1-9.

[3] Delarocque-Astagneau, E., C. Bouillant,V.Vaillant, P. Bouvet, P.A. Grimont, and J. C. Desenclos. 2000. Risk Factors for the Occurrence of Sporadic *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium Infections in Children in France: A National Case-Control Study. *Clin Infect Dis* 31:488-492.

[4] Kimbrough, T. G., and S. I. Miller. 2002. Assembly of the type III secretion needle complex of Salmonella typhimurium. *Microbes Infect* 4:75-82.

[5] Mirold, S., W. Rabsch, M. Rohde, S. Stender, H. Tschape, H. Russmann, E. Igwe, and W. D. Hardt. 1999. Isolation of a temperate bacteriophage encoding the type III effector protein sope from an epidemic *Salmonella typhimurium* strain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96:9845-9850.

[6] O'Brien, S. J., and H. de Valk. 2003. *Salmonella* - "old" organism, continued challenges ! *eurosurveillance* 8:29-31.

[7] Proux, K., E. Jouy, C. Houdayer, J. Protais, M. Dibb-Fuller, E. Boscher, A. Gillard, P. Gracieux, F. Gilbert, C. Beaumont, and M. Duchet-Suchaux. 2002. Reliable ELISAs showing differences between resistant and susceptible lines in hens orally inoculated with Salmonella Enteritidis. *Vet Res* 33:23-33.

[8] Sadeyen, J. R., J. Trotereau, P.Velge, J. Marly, C. Beaumont, P. Barrow, N. Bumstead, and A. Lalmanach. 2004. Salmonella carrier state in chicken: comparison of expression of immune response genes between susceptible and resistant animals. *Microbes and Infection* 6:1278-1286.

[9] Velge, P., A. Cloeckaert, and P. Barrow. 2005. Emergence of Salmonella epidemics: The problems related to Salmonella enterica serotype Enteritidis and to multiple antibiotic resistance in other major serotypes. *Veterinary Research.*

La Listériose

Étienne Zundel, Sylvie Roche, Philippe Velge,
UR 918 Pathologie infectieuse et Immunologie, Tours
équipe Contaminations microbiennes des matières premières alimentaires d'origine animale

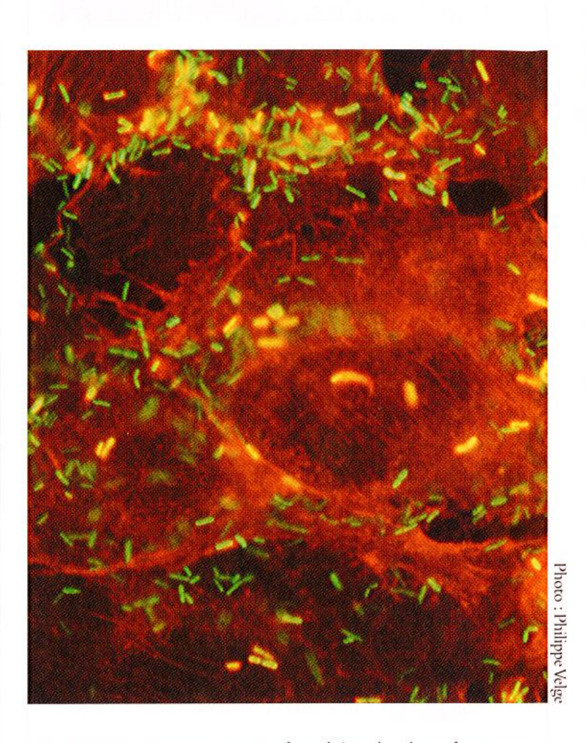
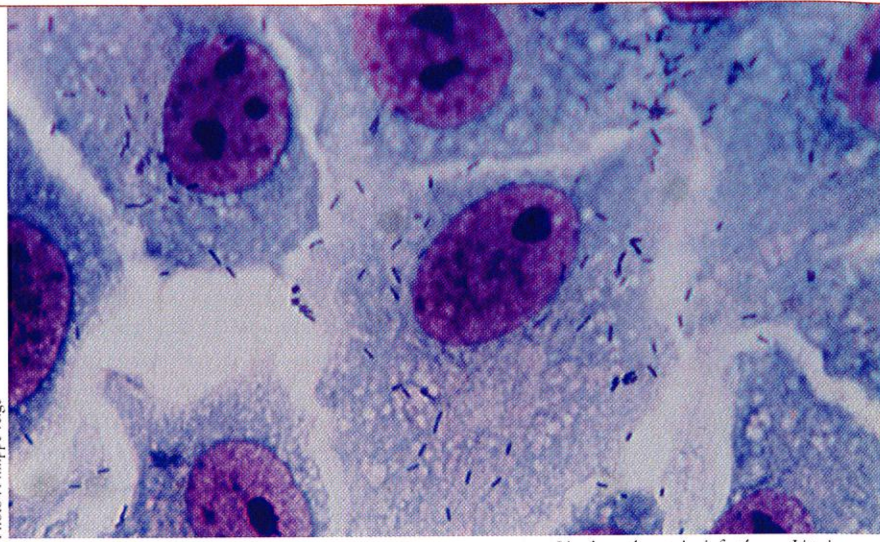


Photo : Philippe Velge

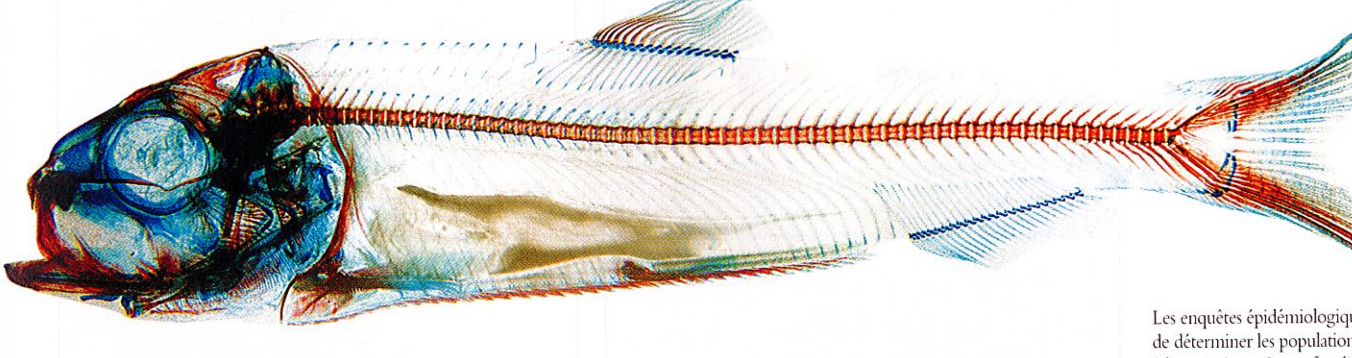
Image en fluorescence de cellules entérocytaires infectées par *Listeria monocytogenes.* [Durée d'infection : 2h de contact plus 1h30 de développement intracellulaire. La bactérie a été préalablement transfectée par un plasmide codant pour le gène de la Green Fluorescent Protein (GFP). Les bactéries fluorescent en vert. Le cytosquelette de la cellule (actine) a été marqué en rouge. On peut voir la bactérie avec une queue d'actine qui lui permet de se mouvoir dans la cellule (la bactérie détourne à son profit l'actine cellulaire)].

Listeria monocytogenes est une bactérie très répandue, capable de se multiplier entre 0 et 42°C. Pathogène opportuniste, elle est à l'origine d'avortements, d'encéphalites et de septicémies chez l'homme et l'animal. La maladie est rare (3,3 cas par million d'habitants en France en 2003), mais grave (25% de létalité). La transmission directe de l'animal à l'homme est rarissime. L'origine alimentaire de la maladie est connue seulement depuis 1983, et une nouvelle forme de listériose (gastro-entérites sévères) a été identifiée à la fin des années 90. Les enquêtes épidémiologiques ont permis de déterminer les populations (personnes avec une maladie ou un traitement entraînant une diminution de l'immunité, femmes enceintes, personnes âgées) et les aliments (charcuteries, fromages au lait cru, poissons fumés, graines germées) à risque. Les ruminants sont infectés par la consommation de fourrages contaminés par la bactérie qu'ils excrètent ensuite dans les matières fécales. Très résistante dans l'environnement, *Listeria* peut contaminer, en l'absence de mesures d'hygiène appropriées, certaines matières premières alimentaires ou l'environnement des ateliers de transformation. Cette bactérie peut alors persister sous forme de biofilm (communauté microbienne adhérant à un support) dans des niches difficiles à nettoyer. En pratique, les aliments peuvent être contaminés à tous les stades de la chaîne alimentaire : production, transformation, distribution, et chez le consommateur. La protection de celui-ci fait l'objet de mesures réglementaires concernant la salubrité des aliments et la surveillance épidémiologique. La prévention consiste essentiellement, chez le consommateur, à éviter les aliments à risque, et à respecter les bonnes pratiques et l'hygiène de la préparation des aliments. Dans l'industrie, la prévention est basée sur des systèmes d'assurance qualité (HACCP). Les méthodes de détection de *Listeria* ont été beaucoup améliorées ces dernières années (délai d'obtention des résultats, facilité de mise en œuvre, limite inférieure de détection), et mettent

actuellement en œuvre trois grands types de techniques : bactériologie classique, immunochimie, biologie moléculaire. C'est à la bactériologie classique qu'appartiennent les méthodes normalisées de référence (NF/EN ISO 11290 1 et 2) et la méthode AFNOR NF V08-055. Les autres méthodes (dont certaines sont partiellement automatisables) peuvent être validées comme méthodes alternatives : milieux de culture chromogènes (identification présomptive directe de la bactérie), tests immunoenzymatiques ELISA ou ELSA, hybridation moléculaire et amplification génique (PCR). Pour les médecins et les scientifiques, *Listeria* est aussi depuis longtemps un modèle de bactérie parasite intra-cellulaire pour l'étude de l'immunité cellulaire (protection de l'organisme par les globules blancs). Par exemple, l'incapacité des anticorps à protéger l'organisme contre les infections dues à des pathogènes intra-cellulaires est un concept établi à partir de l'étude de la listériose chez la souris de laboratoire. Il en est de même pour l'importance des macrophages dans l'élimination de ces pathogènes, ou encore le rôle des lymphocytes T dans l'activation des macrophages. Depuis les années 80, les travaux de recherche ont aussi porté sur les mécanismes moléculaires responsables de la virulence de *Listeria*. Ainsi l'hémolysine est le premier facteur de virulence de *Listeria* identifié ; cette protéine permet à la bactérie, après son entrée dans la cellule, de détruire la vacuole qui l'entoure (phagosome) pour se multiplier à l'intérieur de la cellule-hôte. Une série d'autres facteurs de virulence ont ensuite été identifiés, tels que InlA et InlB impliqués dans la pénétration de la bactérie dans les cellules non phagocytaires (cellules épithéliales, cellules du foie), ou la protéine ActA. Cette dernière est responsable de la motilité de la bactérie dans la cellule : en induisant la polymérisation orientée de l'actine cellulaire, elle permet à la bactérie de se déplacer et de passer dans la cellule voisine. Plus récemment, les génomes entiers de *L. monocytogenes* et *L. innocua* ont été séquencés. Parallèlement, des travaux ont été poursuivis pour mieux comprendre l'écologie de la bactérie, son devenir dans différents substrats (microbiologie prévisionnelle) et les mécanismes de résistance ou d'adaptation de *Listeria* aux stress, c'est-à-dire aux agressions par son environnement (température, sel, acidité, conservateurs, désinfectants, biofilms).


Photo : Philippe Velge

Lignée entérocytaire infectée par *Listeria Monocytogenes*. Durée d'infection : 2h de contact plus 1h30 de développement intracellulaire. Les cellules sont fixées et colorées au Giemsa. Grossissement x 600.


Photo : Didier Bazin

Les enquêtes épidémiologiques ont permis de déterminer les populations et les aliments (charcuteries, poissons fumés...).

- Les recherches en cours

L'unité Pathologie infectieuse et Immunologie (PII) a contribué à identifier les facteurs de risque et les voies de contamination du lait en élevage, et a proposé un test de dépistage des mammites à *L. monocytogenes*. Elle a aussi identifié un certain nombre de protéines induites chez *L. monocytogenes* par le stress acide, dans un biofilm et en carence nutritionnelle. L'unité PII a développé plusieurs projets sur la virulence : modèles murins, tests *in vitro* de mesure de la virulence, diversité de souches de *L. monocytogenes* de faible virulence, et a montré que leur détection était insuffisante sur deux milieux de culture usuels. L'Unité de Soutien en Commun INRA-Institut Pasteur Interaction bactéries-cellules se consacre à l'étude des relations entre la bactérie agresseur et l'organisme agressé, notamment au niveau cellulaire et moléculaire sur le modèle de *Listeria*, modèle qui a permis de mettre en évidence des phénomènes fondamentaux dans les processus infectieux bactériens. L'appréciation du risque microbiologique dû à la présence et au développement de bactéries pathogènes dans les nouveaux aliments prêts à l'emploi à base de légumes est abordée par l'UMR 408 Sécurité et qualité des produits d'origine végétale (Avignon) : comportement des bactéries et flux de contamination sur l'ensemble de la filière de la production des matières premières au consommateur.

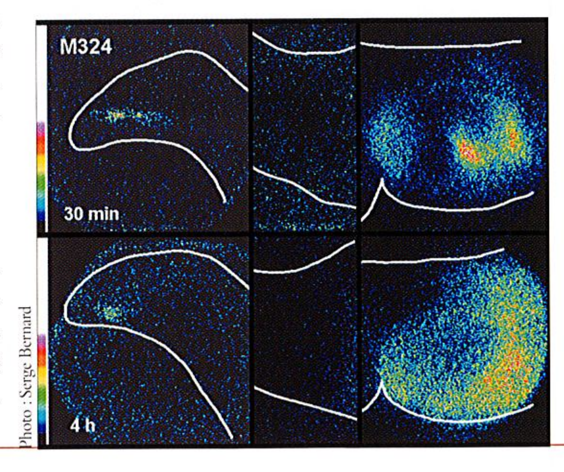


Photo : Serge Bernard

Infection expérimentale de 2 moutons avec des écouvillons trempés dans des *Listeria Monocytogenes* marqués par l'indium 111 et donnés à croquer aux animaux par voie orale.
La diffusion des bactéries dans l'estomac (photos de droite) du mouton 324 observée par imagerie scintigraphique est rapide.

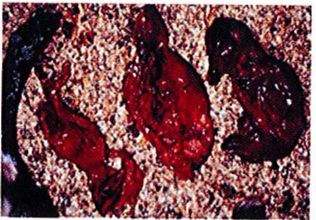
La Toxoplasmose

Daniel Bout, Isabelle Dimier-Poisson, Thierry Fandeur, Marie-Noëlle Mévélec, Nathalie Moiré, Michel Olivier [1]
UMR 483 université-INRA, Immunologie parasitaire et Vaccinologie, faculté de Pharmacie, Tours
équipe de la Toxoplasmose et de la Cryptosporidiose. Immunité des muqueuses et Biotechnologie vaccinale.
[1] UR 918 Pathologie infectieuse et Immunologie, Tours

L'importance de la toxoplasmose en pathologie animale et humaine n'a été reconnue par les vétérinaires, les médecins, les chercheurs et les économistes qu'à partir des années 1970. L'agent étiologique de cette infection est *Toxoplasma gondii*, un protozoaire intracellulaire obligatoire du phylum des Apicomplexa et de la sous-classe des coccidies. Sa distribution est cosmopolite. Le cycle biologique du toxoplasme peut être divisé en deux parties : une multiplication sexuée chez le chat, hôte définitif, qui élimine et dissémine le parasite dans la nature sous forme d'oocystes, et une multiplication asexuée chez l'hôte intermédiaire où le parasite persiste sous forme de kystes dans les muscles et le cerveau. Alors que le chat est, avec quelques autres félidés, le seul hôte définitif, tous les animaux homéothermes peuvent être hôtes intermédiaires.



Photo : Gilles Cattiau



Avortons en voie de momification de brebis non vaccinées et infectées pendant la gestation.

La toxoplasmose animale, par les avortements et la mortalité néonatale qu'elle provoque, représente un problème économique non négligeable principalement pour l'élevage des petits ruminants (ovins, caprins). Ainsi, dans l'Union européenne (statistique de l'Europe des 15), on considère que 1,4 million d'agneaux sont perdus chaque année du fait de la primo-infection des brebis gestantes. En outre, la toxoplasmose animale est en grande partie à l'origine d'un problème de santé publique par la contamination humaine qu'elle entraîne lors de la consommation de viande d'animaux infectés. En France, la consommation de viande ovine serait à l'origine de la majorité des cas humains de toxoplasmose. Des études de 1993 qui mériteraient d'être réactualisées indiquent une séroprévalence animale très variable. Selon les régions, 15 à 72% des ovins sont infectés et donc contiennent des kystes dans leurs muscles et leur cerveau. La consommation de viande de porc semble, par contre, être responsable de la majorité des contaminations humaines dans certains pays, notamment aux États-Unis. Même si la séroprévalence, et donc la présence de kystes dans la viande, y est devenue inférieure à 1% grâce aux mesures d'hygiène préventive de l'élevage industriel du porc, elle peut atteindre près de 100% dans certains élevages traditionnels non protégés des chats, pourvoyeurs d'oocystes qui sont disséminés sur le sol ou dans l'eau et les aliments. Comme l'homme, les animaux carnivores peuvent s'infecter en mangeant des proies présentant des kystes dans leurs tissus. Les petits ruminants et autres animaux s'infectent généralement en ingérant des oocystes éliminés par les fèces de chat. L'ingestion d'oocystes est aussi le deuxième mode de contamination humaine.

Toxoplasmose congénitale et toxoplasmose de l'immunodéprimé représentent les formes les plus redoutables de l'infection humaine. En France, selon l'Office international des Épizooties, il y a eu 1 500 cas de toxoplasmose congénitale humaine en 1999 qui ont entraîné environ 400 interruptions médicales de grossesse pour lésions fœtales sévères. En dehors des cas dramatiques ci-dessus, les séquelles de la toxoplasmose du fœtus sont rarement anodines et se manifestent le plus souvent par des choriorétinites (30% des cas) et des handicaps mentaux. La contamination du fœtus se produit lorsque la mère contracte une primo-infection, généralement sub-clinique, pendant la grossesse. L'infection de la mère au premier trimestre de la grossesse est cause d'un petit nombre de cas aigus d'infection fœtale, mais le risque de fœtopathie grave est important. L'infection du second trimestre est cause d'un nombre intermédiaire de cas de gravité variable. L'infection du troisième trimestre détermine un plus grand nombre de contaminations fœtales, mais leur évolution est moins sévère. Par ailleurs, les sujets immunodéprimés (patients sous immunodépresseurs ou atteints de maladies malignes, particulièrement des lymphomes, et surtout sujets infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) courent un risque important de neurotoxoplasmose par réactivation des kystes présents dans leur cerveau. Par exemple, 60-

70% de la population française en sont porteurs à la suite d'une toxoplasmose acquise. En France et dans les pays économiquement développés, l'introduction des multithérapies pour le traitement des sujets infectés par le VIH a très fortement diminué le nombre de cas de neurotoxoplasmose. Dans le reste du monde, le risque persiste, et on considère que la neurotoxoplasmose, qui se manifeste par des atteintes cérébrales et viscérales multiples, touche plus de 25% des sujets atteints du SIDA, et est mortelle en l'absence de traitement spécifique. La transplantation d'organes peut aussi être un mode de contamination.

Généralement considérée sans gravité chez le sujet immunocompétent, la toxoplasmose acquise de l'enfant et de l'adulte pourrait être à l'origine de troubles du comportement et, selon un certain nombre d'études de ces 5 dernières années, se révèle clairement responsable de cécités progressives de l'adulte consécutives à l'atteinte de la rétine. Cette cécité progressive est déjà connue comme conséquence possible de la toxoplasmose congénitale avec ou sans signes cliniques à la naissance. Il est intéressant de noter que parmi les 3 lignées clonales de toxoplasme décrites, le type I, qui déclenche chez la souris une synthèse exagérée de cytokines inflammatoires normalement protectrices et qui est le seul phénotype toujours létal pour cet animal, est le plus fréquemment retrouvé dans les pathologies oculaires.

La vaccination des brebis avec un vaccin constitué de toxoplasmes vivants atténués permet déjà la prévention des avortements. Une vaccination des ovins qui démontrerait un blocage du développement du parasite permettrait de mettre sur le marché une viande sans kystes infectieux diminuant ainsi fortement le flux parasitaire et donc les risques d'infection humaine. En effet, dans les pays où la séroprévalence animale est faible, la séroprévalence humaine est faible et les toxoplasmoses congénitales y sont très peu nombreuses.

- Les recherches en cours

L'UMR université-INRA d'Immunologie parasitaire et Vaccinologie a développé des études sur les mécanismes inducteurs (cellules dendritiques) et effecteurs (Lymphocytes T mémoire) de l'immunité de protection vis-à-vis du toxoplasme pour aborder de façon rationnelle la mise au point de vaccins moléculaires ne présentant pas les inconvénients des vaccins vivants. Dans une étape préliminaire, et en collaboration avec l'UMR CNRS 5539, Montpellier (J.F Dubremetz), l'équipe a construit un toxoplasme invalidé pour des gènes de virulence capable de protéger expérimentalement contre les avortements. L'innovation marquante par rapport au vaccin existant est que le caractère atténué de ce toxoplasme invalidé est maîtrisé et contrôlable. L'Unité de Soutien en Commun Institut Pasteur-INRA, Réponses immunes précoces et immunopathologie des parasitoses intracellulaires, se consacre à l'étude *in vivo* et *in vitro* des mécanismes immunologiques et physiopathologiques qui déterminent la résistance ou la sensibilité à des infections avec des parasites intracellulaires comme les toxoplasmes, essentiellement à partir de modèles murins.

La résolution des problèmes de santé animale et de santé publique que pose la toxoplasmose passe probablement par des stratégies appuyées sur des vaccins moléculaires, applicables à l'homme et aux animaux de rente et de compagnie.

La Fièvre Q

Annie Rodolakis

UR 918 Pathologie infectieuse et immunologie, Tours, équipe Chlamydiose - Fièvre Q et UE 993 Fièvre Q. Études de l'infection des ruminants par *Coxiella burnetii*

La fièvre Q (pour Query Fever) est une zoonose endémique dans le monde entier excepté en Nouvelle Zélande et dans l'Antartique. Elle a été identifiée pour la première fois en Australie chez des patients travaillant dans des abattoirs. Elle est due à *Coxiella burnetii*, une petite bactérie Gram^{-} intracellulaire qui se multiplie dans le phagolysosome [1] de la cellule hôte. Elle infecte de très nombreuses espèces animales : ruminants, chats, chiens, oiseaux, arthropodes, faune sauvage. Chez les ruminants, *Coxiella burnetii* entraîne des troubles de la reproduction, avortements et mises bas prématurées, et plus particulièrement chez les bovins, des métrites et des infertilités. Des pneumonies sont également observées. Les animaux infectés excrètent *C. burnetii* dans les placentas, le mucus vaginal, le lait, les fèces et l'urine.

La prévalence de la fièvre Q chez les ruminants est mal connue et vraisemblablement sous-estimée car elle n'est pas souvent recherchée et son diagnostic est peu sensible et difficile à interpréter. Les conséquences économiques de la maladie sont très variables : dans certains troupeaux, quelques femelles gestantes en nombre insuffisant pour alerter l'éleveur avortent alors que dans d'autres, les avortements peuvent toucher jusqu'à 90% du troupeau. Le taux d'avortement serait plus élevé dans les troupeaux caprins que dans les troupeaux ovins. Mais la fièvre Q est une zoonose, particulièrement dangereuse pour les patients atteints de valvulopathie, ou immunodéprimés ou encore les femmes enceintes. Dans ces cas, la maladie risque d'évoluer vers une forme chronique grave dont une endocardite mortelle si elle n'est pas diagnostiquée et traitée ou des fausses couches à répétition pour les femmes contaminées pendant la gestation et non traitées.

La prévalence de la maladie chez l'homme est estimée entre 0,01% à 0,1% en France suivant les régions, mais elle n'est pas connue avec précision, car elle peut être asymptomatique dans un grand nombre de cas ou facilement confondue avec une grippe. Seuls 4% environ des infections aiguës nécessitent une hospitalisation et s'accompagnent alors de symptômes variables (hépatite, pneumonie, méningoencéphalites, avortements).

La transmission interhumaine de l'infection est rarissime et se produirait au moment de l'avortement. L'origine des infections humaines est souvent difficile à identifier mais ce sont les ruminants domestiques et principalement les brebis et les chèvres qui sont le plus souvent incriminées. Le principal mode de transmission est l'inhalation d'aérosols infectés provenant de produits de parturition, de fèces ou d'urine d'animaux infectés. La bactérie étant très résistante dans le milieu extérieur, elle peut être transportée par le vent loin du troupeau d'origine et provoquer des infections chez des patients qui n'ont pas de contact direct avec les animaux. Dans certains pays, les piqûres de tiques contaminées joueraient également un rôle dans la transmission de l'infection. L'infection par consommation de lait cru ou de produits laitiers provenant d'animaux infectés est possible mais considérée comme une voie de contamina-

▲ Laboratoire Pathologie infectieuse et immunologie. Test de microimmunofluorescence : dépôt d'antigènes sur la lame.

Photo : Christian Slagmulder

▼ *Coxiella burnetii* (agent responsable de la fièvre Q) cultivé sur œuf embryonné et coloré en immunofluorescence.

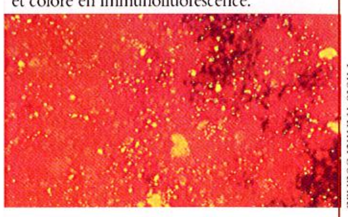


Photo : Armel Souriau

[1] Le phagolysosome s'obtient par fusion des lysosomes, petits sacs bourrés d'enzymes, avec la vacuole de phagocytose (voir schéma du cycle des *coxiella*). Il permet généralement la digestion de ce qui a été phagocyté, sauf dans le cas de certains pathogènes comme les *Coxiella* qui non seulement résistent à la digestion par les enzymes des lysosomes, mais au contraire les utilisent pour se multiplier.



Photo : Christian Slagmulder

Manipulation des souris
(utilisées en expérimentation sur la fièvre Q)
dans un poste de sécurité microbiologique.

tion mineure. Cependant, la commercialisation du lait cru des troupeaux présentant des signes cliniques étant interdite pendant un an, cela entraîne des pertes financières importantes pour les éleveurs alors qu'il n'y aurait pas de lien systématique entre l'apparition de signes cliniques dans un troupeau et l'excrétion dans le lait.

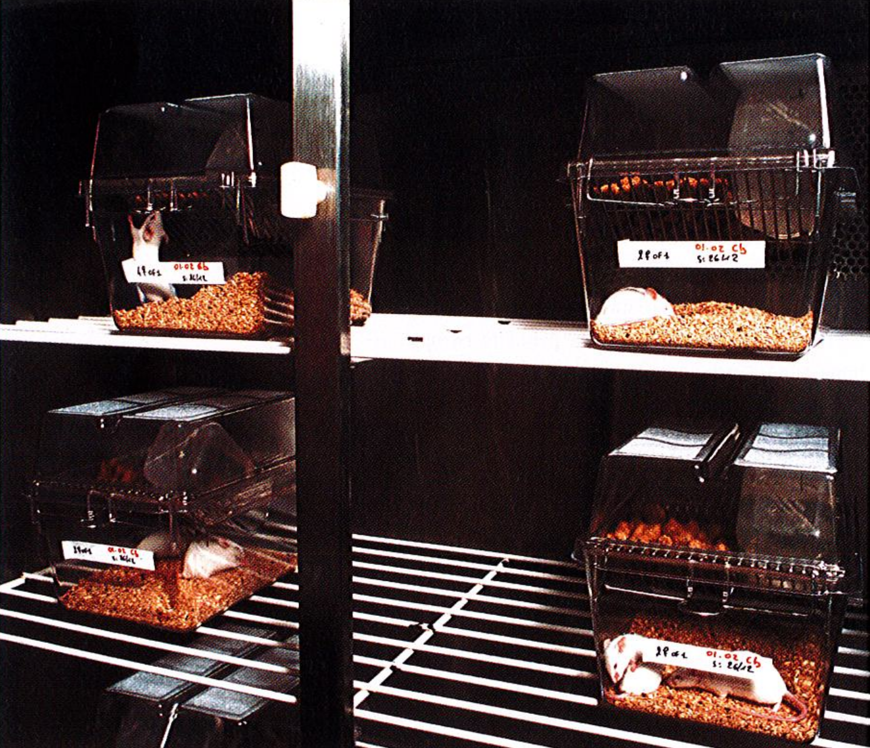


Photo : Jean Weber

Quatre cages de souris
(utilisées en expérimentation sur la fièvre Q)
avec couvercle filtrant dans une armoire ventilée.

- Les recherches en cours

L'étude des voies d'excrétion de *C. burnetii* chez les ruminants infectés naturellement ou expérimentalement a donc été entreprise à la PII et a débuté par la mise au point d'un test PCR permettant la détection de cette excrétion. Ce kit commercialisé depuis début 2004 a montré que la durée et l'importance de l'excrétion varient d'un troupeau à l'autre, d'une espèce à l'autre et qu'elle n'est pas forcément reliée à la réponse sérologique. Les facteurs responsables de ces différences ne sont pas connus (virulence des souches et/ou réponses de l'hôte variables ?). L'unité a donc développé un modèle d'étude de la virulence des souches chez la souris en utilisant une PCR quantitative et entrepris la recherche de marqueurs génomiques de cette virulence.

La diffusion aérienne de *C. burnetii*, sa résistance et la multiplicité des réservoirs ne permettent pas d'éradiquer la fièvre Q par des mesures sanitaires ou par l'abattage des animaux infectés. Cependant plusieurs actions peuvent être proposées pour réduire la contamination des animaux et de l'environnement :

- un traitement antibiotique en fin de gestation pour réduire le nombre d'avortements et la quantité de *C. burnetii* excrétée à la mise bas
- la destruction des placentas et des fœtus pour prévenir leur ingestion par des carnivores domestiques ou sauvages qui pourraient propager l'infection
- la désinfection des fumiers et des lisiers qui ne devront pas être épandus dans les champs lorsque le vent souffle, mais de préférence enfouis pour éviter la dispersion de l'infection.

Néanmoins, la seule façon de prévenir la maladie est de vacciner les troupeaux voisins d'un troupeau infecté avec un vaccin efficace, prévenant les avortements et l'excrétion de la bactérie. Plusieurs vaccins contre la fièvre Q chez les ruminants existaient dans différents pays, mais *C. burnetii* présente des variations antigéniques des lipopolysaccharides (LPS) de son enveloppe. Les *Coxiella* en phase I qui possèdent un LPS long, sont infectieuses pour l'homme et l'animal car elles sont capables de survivre dans les macrophages, contrairement aux *Coxiella* en phase II, dont le LPS est court et qui sont obtenues après plusieurs passages en culture de cellule ou sur œuf embryonné.

Les travaux menés à la PII sur des chèvres infectées expérimentalement ont montré qu'un vaccin inactivé en phase II ne protège ni contre l'avortement ni contre l'excrétion contrairement à un vaccin inactivé en phase I qui réduit considérablement le nombre d'avortements et l'excrétion dans les placentas et les fèces et supprime totalement l'excrétion dans le lait. Un vaccin inactivé en phase I protège donc les animaux non infectés. Il permet de garantir le statut sanitaire d'un troupeau indemne qui serait vacciné. Un tel vaccin était disponible en Slovaquie où son utilisation régulière pendant 10 ans aurait considérablement réduit l'incidence de la fièvre Q dans ce pays aussi bien chez les animaux que chez l'homme. Les travaux de l'INRA ont facilité l'obtention d'une autorisation temporaire d'utilisation de ce vaccin, mais de nombreuses questions restent posées concernant l'épidémiologie de la fièvre Q, la virulence des souches et leur survie dans l'environnement.

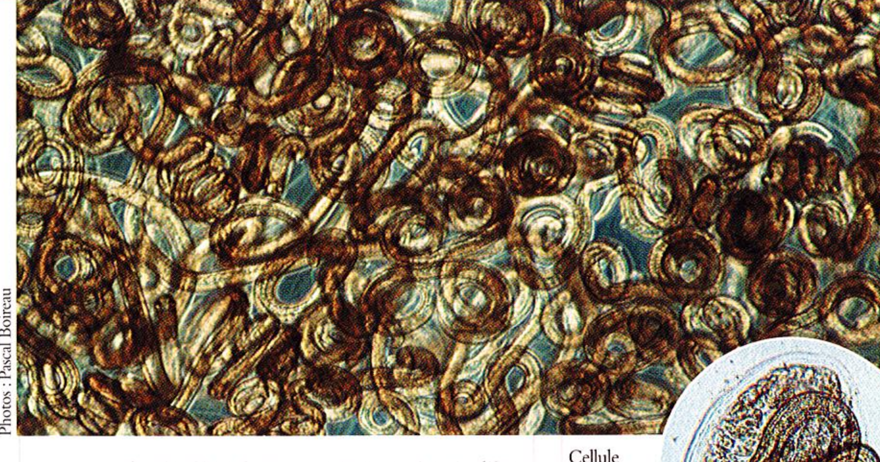
Une autre équipe [2] a un projet sur l'épidémiologie de la fièvre Q dans les troupeaux bovins laitiers bretons intitulé "Bases épidémiologiques pour la maîtrise de l'infection des bovins laitiers par *Coxiella burnetii*" auquel nous collaborons : incidence de la maladie dans les avortements bovins, voies d'excrétion, facteurs favorisant cette excrétion, efficacité des mesures de maîtrise, et impact de la maladie sur les performances des animaux.

[2] F. Baudeau et R. Gatteo de l'UMR 708, Gestion de la Santé animale à l'École Vétérinaire de Nantes dirigée par H. Seegers.

La Trichinellose

Pascal Boireau
UMR 956 BIPAR Biologie moléculaire et immunologie parasitaires et fongiques, Maisons-Alfort
équipe Zoonose parasitaire transmise par les viandes : les trichinelloses

Purification de L1M à partir de muscles de souris infectés (une souris peut héberger 10000 à 30000 L1M).



Photos : Pascal Boireau

La trichinellose est une zoonose parasitaire provoquée par l'ingestion de viande crue ou peu cuite contaminée par le nématode *Trichinella*. Ce ver parasite est cosmopolite et infecte virtuellement tous les mammifères, certains oiseaux carnivores ou détritivores et même quelques reptiles (crocodiles). La trichinellose a un impact sévère en santé publique avec plus de 10 millions de personnes contaminées dans le monde et plus particulièrement dans tous les pays où les contrôles sanitaires sont déstabilisés par des conflits ou rendus inefficaces du fait du sous-équipement (est de l'Europe). C'est aujourd'hui la zoonose parasitaire la plus importante en Roumanie, Serbie, Croatie et un certain nombre de nouveaux États membres de l'Union européenne, avec un cheptel porcin encore fortement infecté (0,05 à 0,1%). L'homme s'infeste le plus souvent à partir de viande de porc, de sanglier, de carnivores contaminés, ou de façon plus exceptionnelle, en France et en Italie lors de la consommation de viande de cheval (contamination exceptionnelle 1/250 000 carcasses) qui fait l'objet d'un contrôle particulier à l'abattoir. La clinique n'est décrite que chez l'homme qui est particulièrement sensible : le tripode (hyperthermie [41°C], myalgie généralisée, œdème de la face) est caractéristique.

Le cycle parasitaire est simple puisque tous les stades se retrouvent chez un même hôte. Il existe une convergence étonnante entre le cycle de la *Trichinella* et celui d'un virus. Le parasite est spécifique de certains tissus (cellule de l'épithélium intestinal et cellule musculaire striée) et se développe dans le cytoplasme de cellules-hôtes ; c'est le seul parasite pluricellulaire à développement intra-cellulaire chez les vertébrés. *Trichinella* induit une transformation de la cellule musculaire en cellule nourricière puis en kyste (par la formation d'une capsule) et n'a d'égal que certains nématodes parasites de plantes [1] (*Meloïdogynes, sternernema*). Il peut apparaître étonnant que le stade infectieux L1M soit également la forme "quiescente" chez un même hôte. Un mécanisme suggéré serait le masquage antigénique de la cellule nourricière devenant étanche par la présence de la capsule tant que la cellule nourricière est maintenue en vie. La synthèse de collagène de types IV et VI est programmée par *Trichinella* de façon séquentielle au niveau de la cellule infectée. La cellule nourricière a un rôle essentiel dans la protection du parasite et sa résistance aux conditions environnementales défavorables (résistance à la chaleur, putréfaction...). La structure de la cellule nourricière a été clairement décrite par des études récentes en microscopie électronique pour toutes les espèces du genre.

- Un contrat européen sur ce thème, TRICHIPORSE [2]

Coordonné par l'INRA (UMR BIPAR), le principal objectif de ce contrat est de mettre sur le marché européen de la viande indemne de parasite avec comme objectifs spécifiques :

- la mise en place de nouveaux tests standardisés chez le porc
- la lecture automatisée avec un système de reconnaissance de forme doté d'un système expert. Les sites d'élection chez le cheval expérimentalement infecté seront déterminés pour plusieurs espèces de *Trichinella* infestantes
- une enquête épidémiologique en Europe (particulièrement dans des pays d'Europe de l'Est) chez le cheval, le porc et la faune sauvage.

Le contrat regroupe onze participants appartenant à 8 pays européens différents. Deux partenaires privés français (Institut Pourquier et Microvision Instruments) assurent le développement et la diffusion de produits validés (tests ELISA et logiciel de reconnaissance de forme). L'Istituto Superiore di Sanita (Italie) organise la collecte des souches de référence avec le département de Parasitologie (Roumanie), l'institute of Parasitology (Pologne), l'Institute of Parasitology (PISAS) (Slovaquie), l'Université vétérinaire de Tilzes (LVA) (Lituanie) et organise l'étude épidémiologique en Roumanie. Les expérimentations animales sont réalisées au Danemark (Danish Center for Experimental Parasitology), en Allemagne (Federal Institute for health Protection) et en Espagne (Laboratorio de Parasitologia). Une grande partie du programme de biologie moléculaire est réalisée par l'INRA dans l'UMR BIPAR en association avec le partenaire italien.

- Les recherches en cours,

voir le résumé "Virulence de *Trichinella*", page 35 partie 3 "Un programme transversal".

Cellule nourricière partiellement digérée après passage dans un liquide de digestion mimant le contenu gastrique. Une large L1M sort de sa cellule protectrice pour pénétrer dans les entérocytes.

[1] Un colloque a eu lieu sur ce thème : Nématode Parasite le 26 novembre 2004, Maisons Alfort. Résumé www.Tours.inra.fr/sfpar.accueil.htm

[2] Un colloque a eu lieu sur ce thème TRICHIPORSE le 29 novembre 2004.



Photo : Catherine Madzak

Scène de chasse au sanglier en azulejos, Musée de l'azulejos à Lisbonne, Portugal.

Épidémies de Trichinelloses humaines liées à la consommation de viande de cheval. Depuis 1998, de nouvelles mesures de contrôle ont été mises en place pour la viande chevaline par la DGAL conjointement avec le laboratoire de Référence des Trichinelloses animales (UMR BIPAR) qui coordonne le dépistage de routine au niveau de 70 laboratoires vétérinaires départementaux agréés. Deux chevaux ont été ainsi bloqués avant consommation depuis 1999 et ont permis d'éviter plusieurs centaines de cas humains. Une émergence récente de la trichinellose porcine a été mise en évidence en 2004 dans le cadre du contrôle systématique des carcasses de porcs abattus en Corse. Dans le cas présent le contact direct avec le réservoir sauvage explique la contamination.
www.vet-alfort.fr/bipar/niveau4/overview_of_trichiporse.htm

Année	Origine géographique	Nombre de cas	Origine du cheval	*Trichinella*
1975	Italie (Bagnolo in Piano)	89	Europe de l'Est	*T. britovi*
1975	France (Chatenay-Malabry)	125	Pologne	*ND*
1984	Italie (Varese)	13	Europe de l'Est	*ND*
1985	France (Paris et Melun)	431	USA	*T. murrelli*
1985	France (Paris, Nogent, Vitry, 8 foyers)	642	Pologne ?	*T. spiralis*
1986	Italie (Salsomaggiore Terme)	>300	Yougoslavie ou Pologne	*T. britovi*
1990	Italie (Barletta)	>500		*T.spiralis*
1991	France (Clermont-Ferrand)	21	USA	*ND*
1993	France (Paris, La Rochelle, et 2 foyers)	538	Canada	*T. spiralis*
1994	France (Seine et Marne)	7	Mexique	*T. spiralis*
1998	France (3 foyers)	128	Yougoslavie	*T. spiralis*
1998	France (Toulouse, Castres)	407	Yougoslavie	*T. spiralis*
1998	Italie (Piacenza)	92	Pologne	*T. spiralis*
2000	Italie (Bitonto)	36	Pologne ou Roumanie	*T. spiralis*

La Fièvre du Nil occidental (ou West Nile)

Stéphan Zientara [1], Philippe Sabatier [2],
Agnès Leblond [2], Dominique Bicout [2], F. Fouque [2]
[1] UMR 1161, INRA AFSSA École Nationale
Vétérinaire de Maisons-Alfort
équipe Virus des Equidés, virus émergents et ré-émergents
[2] unité Environnement et prévision de la santé
des populations, INRA École Nationale Vétérinaire de Lyon

L'émergence de cette maladie aux États-Unis (9388 cas humains dont 246 décès, site Web du CDC, 17 mars 2004) alors que ce virus était inconnu sur le continent américain avant 1999, a contribué à mettre cette maladie sur le devant de la scène dans le domaine de la santé publique humaine. Le virus West Nile (WN) ou virus de la fièvre du Nil occidental, isolé en 1937 en Ouganda chez l'homme, est un arbovirus de la famille des *Flaviviridae.* Transmis par des moustiques, il est aussi largement répandu en Afrique, Europe de l'Est et du Sud, Russie, Moyen-Orient, Inde, Australie et depuis 1999 en Amérique du Nord. Il appartient au séro-complexe du virus de l'encéphalite de Saint-Louis avec lequel il partage des propriétés antigéniques et génétiques. Il est connu surtout depuis une dizaine d'années pour provoquer dans le Bassin méditerranéen et en Europe du Sud des infections aiguës du système nerveux central notamment des épidémies de méningo-encéphalites parfois mortelles chez l'homme ou des épizooties chez les chevaux. Sur le plan réglementaire, la fièvre du Nil Occidental, en tant que méningo-encéphalite virale des Équidés, est inscrite sur la liste des maladies réputées contagieuses en France.

- Cycle de transmission du virus

Le cycle de transmission du virus fait intervenir des moustiques (plus de 43 espèces sont susceptibles de la transmettre), notamment du genre *Culex,* comme vecteurs biologiques, et des oiseaux comme hôtes amplificateurs, selon un cycle moustiques-oiseaux, en zones de marécages mais aussi en zones sèches (voir schéma) [1]. L'homme et les équidés, pouvant être affectés parfois gravement, sont considérés comme des "culs de sacs" épidémiologiques car, chez ces hôtes, la virémie est courte et de faible amplitude ; elle ne permet donc pas d'infecter des moustiques vecteurs potentiels. L'homme et les équidés sont sensibles à l'infection avec une majorité de cas non symptomatiques.

Représentation schématique du cycle de la fièvre du Nil occidental
(le choix des espèces d'oiseaux représentées n'a pas de signification épidémiologique particulière).
Le cycle biologique peut se diviser en deux étapes :
• un premier cycle moustiques-oiseaux, ces derniers permettant l'amplification de la circulation virale,
• une seconde phase révélatrice de cette amplification et caractérisée par l'atteinte des hôtes secondaires que sont l'homme et les équidés principalement.
La fièvre du Nil occidental sévit principalement dans les zones chaudes et humides, de manière sporadique, endémique ou enzootique. Elle s'avère être une maladie saisonnière en zone tempérée où elle apparait en été et en automne, notamment à la suite d'étés chauds, si l'humidité favorise la multiplication des vecteurs.

- West Nile en France

En août 2000, cette maladie a été diagnostiquée sérologiquement et confirmée par PCR dans le département de l'Hérault en France sur deux chevaux euthanasiés en raison de troubles généraux et nerveux. La maladie a été suspectée cliniquement sur plus d'une centaine de chevaux dans les trois départements de l'Hérault, du Gard et des Bouches-du-Rhône [1] [2]. Il n'est pas possible à l'heure actuelle de conclure s'il s'agit de la ré-émergence ou de la maladie précédemment décrite en France dans les années soixante ou de l'observation d'un phénomène qui évoluerait à bas bruit depuis plusieurs années dans la région [3].
De 2001 à 2003, des enquêtes sérologiques [2] effectuées en Camargue ont montré un certain nombre de "séroconversions" [3]. Celles-ci sont observées alors qu'aucun cas de maladie nerveuse n'est officiellement déclaré mais elles permettent d'objectiver une circulation à bas bruit du virus dans la région tous les étés depuis l'année 2000. Les conditions climatiques, environnementales ou les facteurs dépendant des hôtes qui conduisent à cet état de "non-épidémie" restent encore inconnus.
En 2003, 7 cas humains ont été rapportés (3 formes neuro-méningées et 4 formes fébriles) ainsi que 3 formes nerveuses chez le cheval. Ces cas humains et équins étaient tous localisés dans le département du Var. Une enquête sérologique a été effectuée à la demande de la Direction générale de l'Alimentation et avec la collaboration de l'AFSSA (UMR 1161). 306 (sur 906) chevaux ont présenté des IgG dont 23 avaient des titres en IgM significatifs d'une infection récente (rapport AFSSA).

- Les recherches en cours

L'INRA est engagé dans des recherches qui visent à améliorer les outils de dépistage (notamment sérologiques) de l'infection (UMR 1161) et à analyser les risques épidémiologiques d'émergence (USC EPSP). L'INRA a développé un partenariat avec l'Institut Pasteur [4] et le CNES (consortium S2E, "*Surveillance Spatiale des Epidémies*"). L'activité de l'unité EPSP est centrée, depuis 2003, sur l'analyse des mécanismes d'introduction, d'amplification et de diffusion de la Fièvre du Nil occidental dans son environnement naturel (incluant l'étude des vecteurs, des réservoirs sauvages et des facteurs géo-climatiques). Le projet a recours, pour cette analyse, aux techniques de modélisation bio-mathématique, d'analyse spatiale des facteurs de risques et d'étude biologique de la transmission vectorielle. L'objectif est de mieux connaître/modéliser les mécanismes de transmission et les conditions d'émergence de la Fièvre du Nil occidental afin de maîtriser le déclenchement des épidémies dans des populations à risque. Le programme de travail comporte deux aspects abordés en parallèle :

- l'étude du processus épidémique de la Fièvre du Nil occidental (West Nile), qui implique des épidémiologistes et des entomologistes
- l'élaboration de concepts, de modèles, et de méthodes de mesure aux situations génériques d'émergence épidémiologique, qui associe des bio-mathématiciens. Les différentes étapes de ce programme sont l'étude des sentinelles et des traceurs d'infection des populations ; l'analyse des cycles épidémiologiques des réservoirs et des vecteurs et enfin l'étude des facteurs environnementaux de l'émergence. À terme, ces travaux devraient permettre d'éditer des cartes de risque potentiel et des risques d'émergence de la maladie en fonction de la situation sanitaire des populations animales et des conditions environnementales.

Les travaux entrepris entre 2001-2003 dans la population équine de Camargue ont permis de mettre en évidence l'existence d'une circulation à bas bruit du virus West Nile en 2001 et 2002 et d'obtenir une première estimation de la durée de persistance des IgG chez le cheval en condition d'infection naturelle [4]. Par ailleurs, en collaboration avec le laboratoire de Biométrie INRA d'Avignon, l'étude spatiale de la prévalence a permis d'identifier des foyers "à risque" [5]. L'identification des zones à risque a permis d'engager des études spécifiques sur les vecteurs et les réservoirs impliqués dans les cycles de transmission du virus West Nile [6]. Un petit échantillon d'écuries pilotes sera sélectionné pour l'implantation de ces études. Un recueil de cas cliniques à la fois plus sensible et spécifique des maladies infectieuses chez le cheval, a été également développé, il permet :
- d'organiser et d'évaluer un réseau de surveillance vétérinaire pilote, équipé de moyens modernes de communication pour le recueil et la transmission des données en temps réel [7].
- de mesurer l'incidence d'autres maladies infectieuses [8] liées aux écosystèmes humides. Citons les maladies transmises par les tiques (Ehrlichioses, Babésioses, Borrélioses), mais également la leptospirose.

Virus West Nile, transmis par un moustique : le culex. Agent d'arboviroses atteignant surtout les oiseaux, également les mammifères et occasionnellement l'homme.

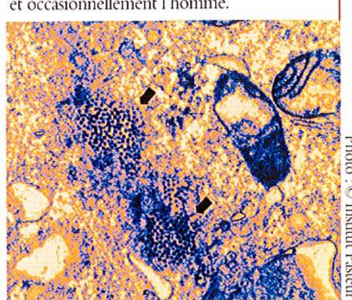


Photo : © Institut Pasteur

[1] 76 cas ont été confirmés dont 21 sont morts. Les exploitations infectées ont été placées sous surveillance (recensement des équidés, contrôles sérologiques). Les mouvements de chevaux dans les trois départements infectés ont été soumis à restriction. Une enquête sérologique a été mise en place et a porté sur 5133 sérums de chevaux ; les résultats obtenus par l'AFSSA (UMR 1161) ont montré que 8,3 % (428) des sérums se sont révélés contenir des anticorps IgG anti-virus West Nile ; 3% avaient des IgM, marqueurs d'une infection récente.

[2] Une enquête sur 488 chevaux en novembre-décembre 2001 a mis en évidence une "séroconversion" chez six chevaux sur les communes de Marsillargues, Lunel, Vendargues (34), Saint Laurent d'Aigouze (30) et Saintes-Maries-de-la-Mer (13). Une seconde étude sérologique conduite, par l'unité EPSP, USC INRA-ENVL, avec le soutien de la DGAL, et en collaboration avec l'AFSSA, sur un groupe de 200 chevaux considérés "à risque" au cours de l'été 2002 a également permis de constater une séroconversion chez un cheval localisé sur la commune de Lunel et prélevé le 31 juillet et une seconde à Arles chez un cheval prélevé en février 2003.

[3] Le terme de "séroconversion" désigne ici un changement de statut d'un cheval, pour lequel deux prises de sang consécutives ont donné un résultat différent au test IgG ELISA, le premier étant négatif, le second positif.

[4] "Le virus de West Nile est surveillé en France par le centre national de référence des Arbovirus et Virus des Fièvres hémorragiques de l'Institut Pasteur à Lyon".

[1] Zeller HG (1999). West Nile : une arbovirose migrante d'actualité. *Med Trop* 59, 490-494

[2] Murgue B, Murri S, Zientara S, Labie J, Durand B, Durand JP and Zeller H (2001) West Nile in France in 2000 : the return 38 years later. *Emerging of infectious diseases*, 7(4), 692-696.

[3] Zientara S, Murgue B, Zeller H, Dufour B, Murri S, Labadie J, Durand B, Hars J (2001). Maladie à virus West Nile en France. *Epidémiol et santé anim* (Revue de l'AEEMA), 39, 113-120.

[4] Bicout D., Leblond A., Heng M.A., Durand B., Zientara S., Durand J.P., Sabatier P. (2003): Analysis of seroprevalence in horses in an endemic area of West Nile disease, Camargue, France, Xth Congress of the Intenational Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics, Vina del Mar, CHILE, November 17 - 21.

[5] Chadoeuf J., Leblond A., Senoussi R. (2004): Using inter-event functions for bandwidth selection in intensity estimation. *Environmetrics, special issue: Environment and Health Related Quality of Life*, **15**: 513 - 517.

[6] Porphyre, T., Bicout, D.J., Sabatier, P. (2004) Modelling the abundance of mosquitoe vectors versus flooding dynamics. *Ecological Modelling* (in press Ecomod 3795).

[7] Leblond A., Bicout D., Sabatier P. (2002): Design and Implementation of a Monitoring System for West Nile Virus in Horses in the South of France. Second Southern African Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine's (SASVEPM) Annual Congress, *Onderstepoort Veterinary Institute*, Onderstepoort, South Africa, 22nd - 23rd July: p. 82-89.

[8] Leblond A., Pradier S., Fortier G., Boireau P. (2004): Cross-sectional study of the seroprevalence to *Anaplasma phagocytophila* and environmental exposure factors in horses in the south of France. BEVA (British Equine Veterinary Association) Congress, Birmingham, UK September 15 - 19th.

Rapport AFSSA sur "La surveillance de l'infection à virus West Nile en France", 2004.

Photo : Christian Slagmulder

La Brucellose

Michel S. Zygmunt, Isabelle Jacques
UR 918 Pathologie infectieuse et immunologie, Tours
équipe Paratuberculose et brucellose

Laboratoire Pathologie Infectieuse et immunologie. Test de diagnostic de la brucellose : test du Rose Bengale. Réaction rapide d'agglutination sur plaque pour la recherche d'anticorps dans le sérum humain ou animal. Réalisation du test.

La brucellose est une zoonose bactérienne c'est-à-dire que cette maladie est transmissible des animaux à l'homme chez qui elle est aussi appelée "fièvre de Malte". La contamination a lieu par contact cutané ou muqueux à partir d'un animal infecté ou par voie digestive par ingestion d'aliments contaminés : par exemple du fromage

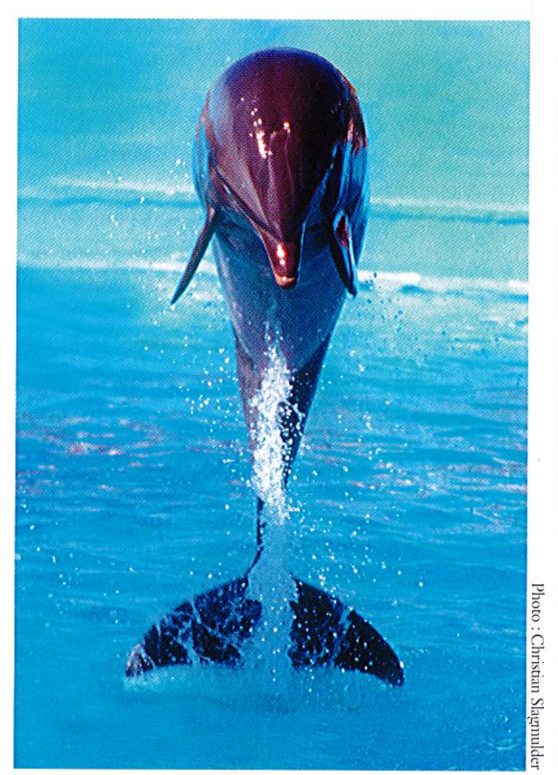


Photo : Christian Slagmulder

frais contaminé. La brucellose se définit chez l'animal comme une maladie d'évolution chronique affectant principalement les organes de la reproduction et dont la manifestation la plus fréquente est l'avortement. L'agent étiologique est une bactérie à Gram négatif du genre *Brucella*. qui comprend 6 espèces, cette classification a été basée à l'origine sur la spécificité d'hôte. En effet, *B. melitensis* infecte préférentiellement les ovins/ caprins, *B. abortus*, les bovins, *B. suis*, les porcins, *B. ovis*, le bélier, *B. canis*, le chien et *B. neotomae*, un petit rat du désert. Ces bactéries sont des parasites intracellulaires facultatifs capables de survivre et de se multiplier dans les cellules phagocytaires des mammifères, échappant ainsi à la destruction induite par le système immunitaire. Limitée à l'origine aux zones méditerranéennes, la brucellose s'est ensuite étendue à l'ensemble du globe. En France, les programmes de surveillance et de contrôle permettent d'espérer une maîtrise à court terme de la brucellose. Mais la faune sauvage peut être un réservoir, par exemple par la présence de sangliers infectés par *B. suis* biovar 2. Ils seraient à l'origine de la ré-émergence de la brucellose porcine dans les élevages en plein air. Plus récemment, un nouveau risque pour la santé publique est apparu avec l'isolement de *Brucella* chez les mammifères marins comme les pinnipèdes et les cétacés. Ces souches "marines" sont aussi très pathogènes pour l'homme.

- Les recherches en cours

L'émergence de ces souches a conduit à analyser de façon plus générale la biodiversité des *Brucella* en recherchant la variabilité phénotypique et génotypique des différentes espèces et biovars. Cette étude devrait conduire à une meilleure connaissance des mécanismes d'acquisition des facteurs de pathogénie au sein de la famille des ∝2-protéobactéries à laquelle les *Brucella* appartiennent.

(Voir aussi le résumé "Un programme transversal", partie 3, page 32).



Photo : Michel S. Zigmunt

La Cryptosporidiose

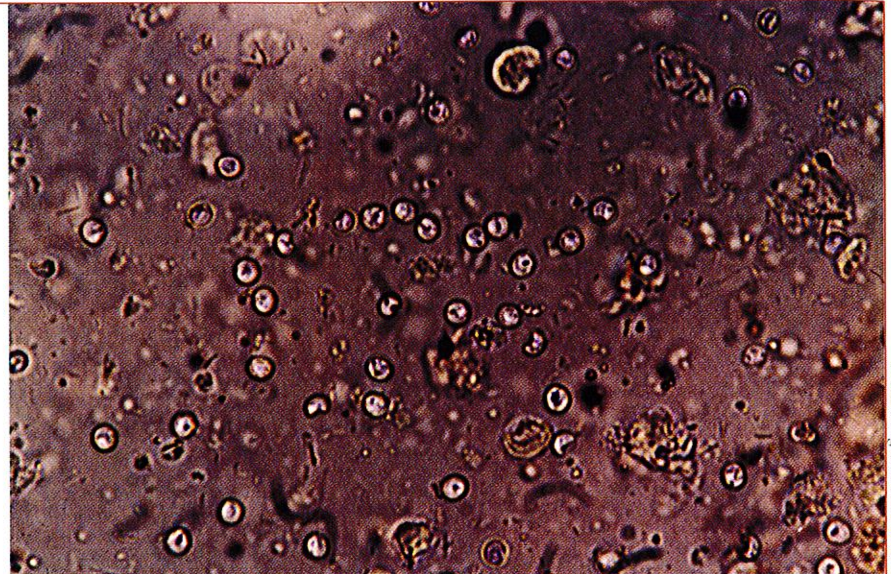
Fabrice Laurent, Sonia Lamandé, Mathieu Barrier, Roselyne Mancassola et Murielle Naciri
UR 86 Bioagresseurs, santé, environnement, Tours
équipe Contrôle et immunologie des maladies à protozoaires

La cryptosporidiose est une maladie parasitaire de type zoonose dont le développement dépend du statut immunitaire du sujet ; elle touche les sujets jeunes ou immunodéficients. Décrit initialement chez la souris par Tyzzer en 1912, *Cryptosporidium parvum*, un protozoaire qui infecte les cellules épithéliales intestinales, n'a été identifié chez les veaux qu'en 1971, puis chez l'homme en 1976 où les manifestations cliniques de cette maladie se caractérisent par des nausées, des crampes abdominales et surtout des diarrhées fréquentes. C'est dans les années 1980 que *C. parvum* a émergé comme l'agent causal de diarrhées sévères chez les sujets atteints du SIDA. Aujourd'hui, l'utilisation systématique de la trithérapie chez les personnes atteintes du SIDA a considérablement réduit le nombre de cas de cryptosporidioses humaines en France. Cette maladie demeure toutefois bien présente dans le monde et surtout dans les pays en voie de développement.

Les analyses par PCR ont permis de distinguer au sein de l'espèce *C. parvum*, deux génotypes, le génotype 1 qui infecte l'homme et le génotype 2 qui infecte l'homme et les ruminants.

C. parvum a un potentiel de contamination important du fait du grand nombre d'oocystes (le stade de dissémination) excrétés, de la stabilité de ceux-ci dans l'environnement et du petit nombre d'oocystes nécessaire pour conduire à une infection. L'infection humaine est due à l'ingestion d'oocystes de *C. parvum* par contact direct avec des sujets malades ou par contamination indirecte par de l'eau de boisson ou des aliments souillés consommés crus. A Milwaukee en 1993, une contamination de l'eau de boisson à la suite de fortes précipitations a touché 403 000 personnes. Depuis quelques années, les sociétés distributrices d'eau travaillent intensivement sur des traitements et procédés visant à inactiver ou éliminer les oocystes de *C. parvum*.

Dans le domaine vétérinaire, la cryptosporidiose des ruminants est aujourd'hui la première cause des entérites diarrhéiques du veau nouveau-né. Elle occasionne d'importantes pertes économiques dans les élevages de ruminants par la morbidité, la mortalité et les coûts liés aux réhydratations et aux traitements. Le parasite, *C. Parvum*, se révèle particulièrement résistant aux traitements classiquement utilisés pour contrôler le développement d'autres micro-organismes. Sur les deux cents molécules testées contre *C. parvum*, le lactate d'halofuginone est aujourd'hui la seule ayant obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM) en France (1999) pour la prévention et le traitement de la cryptosporidiose du veau. Des traitements efficaces font donc toujours cruellement défaut malgré les efforts de nombreux laboratoires. Le séquençage complet de son génome [1] a permis de confirmer que de nombreuses voies métaboliques sont propres à ce parasite ; ce qui explique probablement l'inefficacité des drogues utilisées contre d'autres protozoaires. La maladie s'exprimant dès les tout premiers jours de vie, la mise au point d'un vaccin pour le jeune ruminant semble compromise. L'immunité maternelle qui pourrait jouer un rôle via la production d'anticorps dans le colostrum ne semble pas non plus déterminante. Toutefois, des essais d'hyper-immunisations ou de vaccination génique de la mère se sont dans certains cas révélés efficaces.



Oocystes de *Cryptosporidium parvum* mis en évidence dans les fèces d'un veau par la technique de flottation sur lame.

Photos : Brigitte Gaillard-Martini

- Les recherches en cours

Le développement de la maladie étant très fortement lié au statut immunitaire des animaux, l'unité met en œuvre des stratégies visant à accélérer la maturation du système immunitaire des muqueuses intestinales du jeune animal. Le système immunitaire au niveau de l'intestin est soumis à un fort développement lors des premiers jours de vie avec notamment l'installation de la flore commensale au niveau du tube digestif, la présence d'antigènes alimentaires sans oublier les premiers agents infectieux. L'immaturité du système immunitaire est due au nombre réduit de cellules immunitaires au niveau des organes périphériques, au manque de cellules mémoires [1] mais aussi à une réponse qualitativement moins efficace. La stratégie choisie est basée sur l'utilisation de produits bactériens stimulant l'immunité, ces produits bactériens inter-agissent avec les récepteurs de type Toll-like qui sont considérés comme des récepteurs adjuvants. Ces récepteurs initialement identifiés chez la drosophile interviennent dans le déclenchement rapide de l'immunité innée et conduisent à la production de molécules pro-inflammatoires qui vont attirer et activer localement les cellules immunitaires responsables de la réponse protectrice. Afin d'induire une réponse pro-inflammatoire modérée et transitoire au niveau de la muqueuse intestinale, il a été inoculé à des nouveau-nés par voie orale du LPS (Lipopolysaccharides présents à la surface des bactéries Gram négatives), des oligodéoxynucléotides contenant des séquences CpG (ces séquences sont naturellement présentes dans les génomes bactériens) ou encore du BCG inactivé à la chaleur (bacille de Calmette et Guérin, agent de la tuberculose). Ces traitements ont été suivis d'une infection d'épreuve et ont permis de réduire de 40 à 90% le développement du parasite. Les efforts visent aujourd'hui à comprendre les mécanismes par lesquels l'effet protecteur a été obtenu. Il est important de préciser que cette approche d'immuno-stimulation des animaux nouveau-nés ne s'applique pas qu'au seul traitement de la cryptosporidiose mais aussi à la prévention de nombreuses maladies néonatales.

Plaque de Peyer iléale de souris déficientes pour l'interféron gamma infectées par *Cryptosporidium parvum*. Détail.

[1] Des cellules qui ont proliféré après un premier contact avec un antigène et qui seront capables de répondre de façon spécifique à l'occasion d'une nouvelle stimulation (s'oppose aux cellules naïves).

[1] Abrahamsen *et al. Science* 2004.

Zoonoses potentielles

L'Adénocarcinome pulmonaire des ovins
Existe-t-il un lien de causalité avec le cancer bronchioloalvéolaire chez l'homme ?

Caroline Leroux, Geneviève Cordier, Vincent Cottin, Fabienne Archer, Jean-François Mornex
UMR 754 INRA-ENVL-UCBL Rétrovirus et Pathologie Comparée, Lyon

Initialement décrit en Afrique du Sud au 20ème siècle, l'adénocarcinome pulmonaire ovin est un cancer du poumon associé à l'infection par le rétrovirus JSRV (Jaagsiekte Sheep RetroVirus). La maladie se manifeste cliniquement par une toux, un essoufflement, un amaigrissement et l'écoulement abondant de sécrétions mucoïdes par les nasaux. De nombreux nodules tumoraux se retrouvent au niveau des poumons ; les métastases extra-thoraciques sont rares. La mort de l'animal survient rapidement, en quelques semaines, après l'apparition des signes cliniques. La tumeur se développe au niveau des alvéoles pulmonaires, essentiellement par multiplication des cellules épithéliales du poumon profond (pneumocytes de type II). Ces cellules sont essentielles aux fonctions pulmonaires, par la sécrétion des éléments du surfactant, un fluide tensio-actif permettant le maintien de l'intégrité des alvéoles pulmonaires. La transmission du virus entre petits ruminants se fait probablement par des aérosols du fluide infectieux produit par les cellules épithéliales alvéolaires cancéreuses. Faute de diagnostic sérologique de l'infection, sa fréquence est méconnue, mais cette maladie semble endémique dans les troupeaux d'ovins dans certaines régions françaises. Comme pour beaucoup de rétrovirus, il existe une contrepartie endogène au JSRV, appelée enJSRV, présente sous forme d'une dizaine de copies intégrées dans l'ADN de chacune des cellules (photo ►). Ces copies endogènes sont transmises comme des gènes mendeliens et font partie intégrante du génome des petits ruminants, au même titre que des gènes cellulaires. Leur rôle éventuel dans le développement du cancer est inconnu.

[1] Dufourt et coll. (Hôp Paris, 1954; 30: 1209).



Photo : Florence Carreras

- Chez l'homme

Sur les plans clinique, histologique et radiologique, il existe des similitudes certaines entre l'adénocarcinome pulmonaire ovin associé à l'infection par JSRV et le cancer bronchioloalvéolaire humain. Le cancer bronchioloalvéolaire est une forme rare d'adénocarcinome qui a suscité depuis longtemps l'intérêt des pathologistes tout autant que des pneumologues ou des chirurgiens. Il a une présentation multifocale et les cellules tumorales dérivent, comme pour l'analogue ovin, des pneumocytes de type II. Cette forme particulière de cancer pulmonaire est résistante aux approches classiques de chimiothérapie et radiothérapie. Contrairement à la majorité des cancers pulmonaires chez l'homme, le cancer bronchioloalvéolaire est rarement métastasique, rendant possible le remplacement du poumon cancéreux par transplantation pulmonaire.

Les données épidémiologiques sur le cancer bronchioloalvéolaire humain font apparaître des caractéristiques qui le différencient quelque peu des autres formes de cancers bronchopulmonaires. Parmi ces données on retiendra, en comparaison avec les autres formes de cancer du poumon humain, qu'il est le plus faiblement associé au tabagisme, qu'il apparaît chez des individus plus jeunes avec un "ratio" femme/homme plus élevé. Ces observations ont posé depuis plusieurs décennies l'hypothèse d'une étiologie particulière. Dès 1954 [1], était posée l'hypothèse d'une origine virale au cancer bronchioloalvéolaire :"L'affection est-elle d'origine infectieuse comme la Jaagsiekte des ovidés ? Est-elle néoplasique ?". L'établissement d'une relation de causalité entre un agent infectieux et le développement d'une pathologie nécessite l'identification de cet agent. Différentes approches moléculaires (amplification génique, hybridation...) visant à mettre en évidence le génome du virus JSRV chez les malades présentant un cancer bronchioloalvéolaire se sont révélées négatives. À noter cependant, un très récent travail montrant la présence de génome fortement apparenté à celui de JSRV chez des individus africains. D'autres éléments ne permettent cependant pas d'exclure totalement l'hypothèse d'une implication virale dans le cancer bronchioloalvéolaire humain :

- sur des coupes de tissus pulmonaires de malades présentant un cancer bronchioloalvéolaire, il a été mis en évidence l'expression d'une protéine suffisamment proche de la protéine de capside de JSRV pour être détectée par des anticorps dirigés contre cette protéine virale. Ceci suggère la présence chez ces individus du virus JSRV ou d'un virus apparenté
- dans cette deuxième hypothèse, il pourrait s'agir de formes rétrovirales endogènes, HERV (Human Endogenous RetroVirus), présentes dans le génome humain en de mul-

► Observation de particules rétrovirales en microscopie électronique bourgeonnant à la surface de cellules.

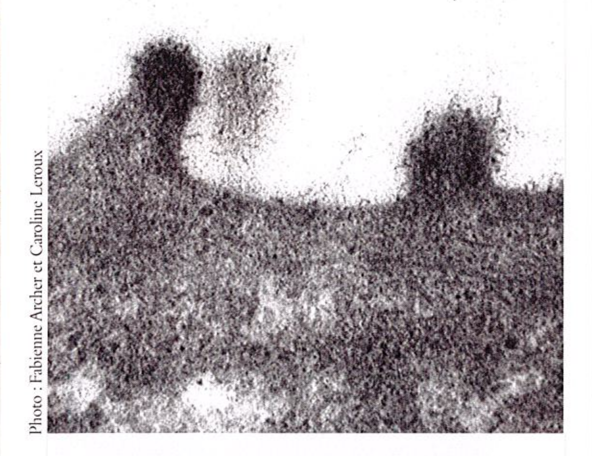


Photo : Fabienne Archer et Caroline Leroux

tiples copies et capables de se réactiver lors du phénomène d'oncogénèse

• il a été rapporté l'existence, sur des cellules humaines, d'une protéine permettant une interaction spécifique entre l'enveloppe du virus JSRV et la surface cellulaire, protéine confirmée comme étant HYAL 2, le récepteur du virus chez l'animal

• enfin, des cas de récidive du cancer sur le poumon transplanté chez des patients ayant reçu une greffe pulmonaire, pour remplacer les poumons envahis par le cancer bronchioloalvéolaire, amènent à s'interroger sur l'existence d'un agent infectieux capable de recoloniser le greffon.

- Les recherches en cours

Une des thématiques développées par l'UMR 754 "Rétrovirus et Pathologie comparée" concerne l'étude comparée de l'adénocarcinome pulmonaire ovin et du cancer bronchioloalvéolaire humain. Le cancer du poumon pose un problème très sérieux de santé humaine. Une meilleure compréhension des mécanismes conduisant au développement des lésions et de nouvelles approches thérapeutiques sont 2 éléments essentiels à la survie des malades, actuellement inférieure à 7% à 10 ans. Les modèles animaux sont des outils importants dans ces étapes. Par ailleurs, l'hypothèse d'une transmission du virus ovin à l'homme doit être testée. L'unité s'intéresse à la biologie du virus JSRV inducteur de cancer chez le mouton et à la compréhension des interactions entre le virus et la cellule, aboutissant au développement d'une tumeur. Les mécanismes intracellulaires dérégulés par l'infection des cellules par le virus JSRV sont analysés. Compte tenu des résultats intéressants, et dans certains cas contradictoires, apportés par des études cellulaires et moléculaires, il a paru également important de développer une approche épidémiologique du cancer bronchioloalvéolaire visant à rechercher l'existence d'une association entre ce cancer et l'exposition aux ovins/caprins. Le but de cette étude est d'identifier si, parmi les facteurs de risque associés à la survenue de cancer bronchioloalvéolaire, la prévalence de l'exposition à des ovins/caprins est plus importante chez les patients présentant un cancer bronchioloalvéolaire comparé à des patients témoins. On peut s'interroger sur le risque d'une exposition dans la petite enfance ; en effet, le contact avec des animaux comme facteur de risque dans des cancers humains a déjà été envisagé pour d'autres formes de cancer, en particulier dans le cas des tumeurs du cerveau chez l'enfant.

La Maladie de Borna en France

Stephan Zientara, Gwenaëlle Dauphin,
UMR 1161 INRA-AFSSA-ENVA, Virologie des équidés et des affections virales émergentes et ré-émergentes, Maisons-Alfort

Le virus de la maladie de Borna (BDV) est responsable de méningo-encéphalite non purulente, souvent fatale chez les chevaux et les moutons en Allemagne et dans la vallée du Rhin située entre la Suisse, l'Autriche et le Lichtenstein (zone enzootique). Depuis sa première description au 19e siècle, le BDV est désormais isolé dans de nombreux pays et chez de nombreuses espèces animales à sang chaud, y compris chez l'homme. En médecine humaine, le BDV pourrait être responsable de troubles psychiatriques tels que la schizophrénie, l'autisme, le syndrome de fatigue chronique et la dépression chronique. Toutefois, le caractère zoonotique du BDV est encore largement controversé.

- Caractères du virus

L'agent étiologique de la maladie de Borna a été caractérisé en 1994 : c'est un virus à ARN négatif, simple brin, enveloppé et non segmenté (ARN NNS) [1].

Une des particularités de ce virus - contrairement à la majorité des virus à ARN - est l'extrême stabilité de son génome à la fois dans le temps, d'une zone géographique à l'autre et surtout d'une espèce animale à l'autre. Les séquences nucléotidiques complètes des 2 souches de référence (souche V isolée en 1929 et He/80 isolée en 1980) présentent 95% de similitude, malgré leur origine et leur historique de passage des souches *in vivo* et *in vitro* très différents.

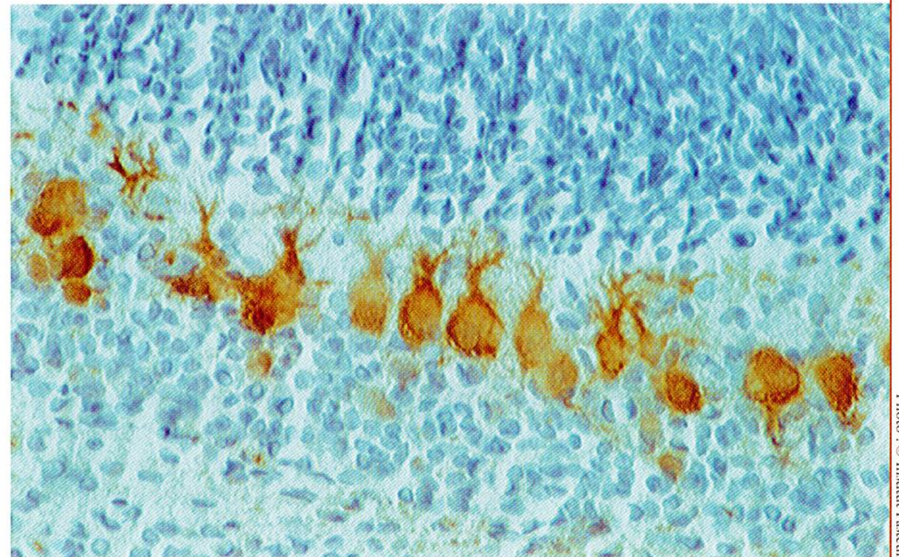


Photo : © Institut Pasteur

Bornavirus (virus à ARN neurotrope) infectant des cellules de Purkinje du cervelet. Détection de l'antigène du bornavirus par immunocytochimie chez le rat Lewis infecté. Ce virus est responsable d'infections persistantes du système nerveux central chez de nombreux mammifères, accompagnées de troubles comportementaux divers. Il existe des arguments plaidant pour des infections possibles chez l'homme et une éventuelle implication du virus dans certaines maladies psychiatriques, comme la schizophrénie.

Même si toutes les souches isolées jusqu'ici présentent moins de 5% de divergence, elles sont en faible nombre et peu disponibles pour des échanges inter-laboratoires. Il y a cependant une exception à cette inhabituelle stabilité : le nouveau génotype (la souche No/98) isolé d'un cheval autrichien (hors de la zone enzootique d'Europe centrale) présente par rapport aux autres souches de BDV une variabilité génétique de 15%, mais une grande conservation des séquences d'acides aminés. L'ensemble des souches de BDV identifiées en dehors de la zone enzootique (USA, Japon, Royaume-Uni...) sont quasi identiques aux souches de laboratoire dérivées des isolats d'Europe centrale. La détection de BDV chez les animaux et l'homme en

[1] Les protéines les plus antigéniques et présentes en quantités importantes dans les cellules infectées, sont les protéines codées par les gènes p24 et p40.



Photo : Jean Weber

dehors de la zone enzootique est-elle un simple artefact dû à la contamination accidentelle des prélèvements par les souches de laboratoire classiques ou une réalité ? Il est également possible qu'un grand nombre de souches de BDV existent dans le monde et que les techniques de diagnostic actuelles ne détectent que certaines d'entre elles. La description de cette nouvelle souche confirme donc la nécessité d'effectuer des enquêtes épidémiologiques permettant d'isoler de nouvelles souches et souligne aussi l'insuffisance des méthodes actuelles de diagnostic.

- Épidémiologie de la maladie

Spectre d'hôtes

L'accumulation de données épidémiologiques montre que le spectre d'hôtes ainsi que la répartition géographique de la maladie de Borna semblent plus étendus que ce qui était supposé auparavant. La maladie de Borna a été décrite à l'origine uniquement chez les chevaux et les moutons mais d'autres espèces animales à sang chaud peuvent également être infectées (dont la plupart des individus sont porteurs sains), tels que bovins, chèvres, lapins, chiens, chats et une variété d'autres espèces comme les autruches, chevreuils, singes, alpagas, lamas et plus récemment lynx et renards. La maladie expérimentale est possible chez la plupart de ces espèces, y compris chez les primates.

- Répartition géographique

La maladie de Borna a été observée pendant longtemps uniquement en Europe centrale, en particulier en Allemagne. Aujourd'hui la distribution géographique de la maladie est encore incertaine mais des infections ont été décrites au nord de l'Europe, aux USA, au Japon, en Iran et en Israël. Une première étude séro-épidémiologique menée dans la population équine française en 1999 (à l'AFSSA Alfort en collaboration avec l'Institut Pasteur) a permis de détecter 14 chevaux séropositifs sur 158 (8,9%). Une autre enquête réalisée à l'AFSSA Alfort à partir de 196 prélèvements d'animaux (171 cerveaux de différentes espèces animales et 25 prélèvements de sang), a révélé la présence d'ARN de BDV dans 10 prélèvements de cerveaux de bovins, chevaux et renards ainsi que dans 14 prélèvements de sang de chevaux. Ces résultats constituent à la fois la première détection du virus Borna en France et sa première mise en évidence chez le renard. La plupart de ces animaux présentaient des troubles nerveux. Enfin, une étude (basée sur la RT-PCR) a été réalisée chez l'homme par le CHU de Bordeaux (Virologie EA 2968 université Bordeaux 2 Victor Segalen) et a permis de détecter de l'ARN de BDV chez 11 patients infectés par le VIH sur 82 testés et 1 patient transplanté sur 40 testés. Ces 3 études ont bien montré la présence du virus Borna en France. En outre, plusieurs cas cliniques de chevaux atteints de maladie de Borna ont été identifiés en France.

- Mode de transmission

Les connaissances sont encore limitées sur le mode de transmission. Le virus est probablement transmis via les sécrétions salivaires, nasales et conjonctivales puisque de l'ARN de BDV a été détecté dans ces sécrétions. La contamination a lieu par voie olfactive, soit par contact direct avec ces sécrétions soit par l'alimentation ou l'eau contaminée.

- Les recherches en cours

voir le résumé "Un programme transversal", partie 3, page 36.

La Maladie de Crohn

Franck Biet
UR 918 Pathologie infectieuse et immunologie, Tours
équipe Paratuberculose et Brucellose

La maladie de Crohn est une maladie inflammatoire chronique de l'intestin qui constitue l'un des problèmes majeurs dans le domaine de l'hépato-gastro-entérologie humaine. Cette maladie semble être due à un dérèglement du système immunitaire qui réagit trop fortement à un stimulus inoffensif. Les patients porteurs d'une maladie de Crohn invalidante ou non contrôlée (diarrhée sévère, sténose digestive, abcès, hémorragies...) doivent parfois être opérés. L'incidence de la maladie de Crohn progresse au niveau mondial avec une fréquence plus importante dans les pays occidentaux. En France, la maladie de Crohn touche environ 60 000 personnes et toucherait 80 à 100 000 personnes dans les dix ans à venir. L'étiologie de cette maladie reste inconnue. Dès la description anatomo-pathologique des lésions granulomateuses en 1913, l'hypothèse d'une origine mycobactérienne a été suspectée. Cette hypothèse très controversée est reconsidérée depuis quelques années, notamment pour *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* (Map). Chez l'animal, Map est l'agent étiologique de la maladie de Johne, une maladie inflammatoire chronique de l'intestin, cliniquement proche de la maladie de Crohn. Bien identifiée chez les bovins puis les caprins et plus tardivement les ovins, Map affecte également de très nombreuses espèces domestiques et sauvages. Malgré de réelles difficultés d'isolement et de culture de cette mycobactérie, des études récentes ont montré que le postulat de Koch [1] était vérifié pour Map et la maladie de Crohn. L'homme est souvent exposé à cette mycobactérie très présente dans l'environnement et retrouvée viable dans du lait pasteurisé. Une étude épidémiologique canadienne montre qu'une population de personnes saines ou atteintes de Crohn ou d'enfants sains a un même taux de séropositivité à Map, soit environ 35%. Aujourd'hui il semble bien établi que si Map est impliquée dans l'apparition de la maladie de Crohn, elle dépendrait d'autres facteurs de prédisposition. Des recherches récentes en génétique ont démontré l'existence de facteurs génétiques de susceptibilité à cette maladie. Parmi les différents loci impliqués, *NOD2/CARD15* est le plus étudié, 30% des patients atteints de Crohn portent une mutation dans ce locus. Le gène *NOD2/CARD15* est exprimé dans les lignées de monocytes et code des récepteurs intracellulaires reconnaissant des composants de bactéries à Gram positif, tels que les muramyl dipeptides (MDP) que possèdent les mycobactéries. Ainsi, ces récepteurs mutés ne permettent plus d'activer la réponse immunitaire innée au niveau de la muqueuse intestinale, un premier système de défense très important.

- Les recherches en cours

Tous ces éléments font de Map un bon candidat pouvant être impliqué dans le déclenchement de la maladie de Crohn. La PII a donc récemment engagé des recherches sur ce thème. Cette maladie résulterait d'un tandem constitué d'au moins un pathogène bactérien et de plusieurs facteurs de prédisposition. Des études épidémiologiques seront nécessaires pour évaluer la proportion de cas de la maladie de Crohn pouvant être associés à Map, notamment par analyses moléculaires des souches de Map provenant des animaux et de l'homme, sujet sur lequel très peu de données sont actuellement disponibles.

Par ailleurs, une meilleure connaissance du dialogue moléculaire qui s'établit entre Map et les cellules de l'hôte devrait permettre de mieux comprendre la contribution de Map dans le développement de la maladie de Crohn. ■



Photo : Maggy Grayon

Colonie de *Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis* sur gélose milieu de Herrolds au jaune d'œuf x 15.





Photo : Franck Biet

Étude des différentes lésions gastro-intestinales chez deux patients atteints de la maladie de Crohn.
Le patient de gauche (A) a de multiples ulcérations entéro-entérique, iléo-iléale et iléo-colique.
L'individu de droite (B) présente une forme non perforante de la maladie de Crohn.
R.J. Greenstein and A.J. Greenstein. *Mol Med Today* 1 (1995), pp. 343–348.

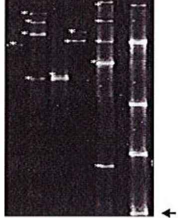
[1] Quatre règles proposées par Robert Koch pour prouver la pathogénie d'un organisme : associer l'agent causal au syndrome/isoler l'agent en culture pure/reproduire le syndrome après transmission de l'agent infectieux à des organismes sains/re-isoler l'agent infectieux (identique à celui précédemment isolé) de l'hôte.

Photo : Jean Weber

3. Un programme transversal de recherches sur les zoonoses

Galerie API de *Bartonella chomelii* espèce décrite en 2003 par l'équipe.

Photo : ©ENVA



PCR-TTGE appliquée à l'étude du bactériome des tiques
Amplification à partir d'ADN extrait de tiques, de l'ARN 16S avec des amorces universelles. Les séquences amplifiées de même taille sont séparées par le gel TTGE selon leur pourcentage en GC. Le séquençage des bandes purifiées permet d'identifier la ou les espèces bactériennes portées. Exemple piste 1 une seule espèce *(Bartonella)* piste 5 plusieurs espèces bactériennes portées (dont *Bartonella* et *Borrelia*) (M. Vayssier, UMR BIPAR).



Photo : Delphine Filiputti

Femelle *Ixodes ricinus* et sa ponte.



Photo : Gwenaël Vourc'h

Accouplement de tiques *Ixodidea*.

Les zoonoses sont une des priorités affichées de l'INRA. Toutefois, l'étude de ces maladies suppose une diversité de missions et d'objectifs : développement de connaissances fondamentales, élaboration de méthode de diagnostic et de contrôle éprouvés, épidémiologie et surveillance, contrôle et référence, production de vaccins, accompagnement des décideurs dans la gestion des crises. L'Institut n'a pas pour mandat de remplir toutes ces missions et se consacre plutôt aux recherches d'amont en coordination avec d'autres acteurs. Les connaissances acquises enrichissent notre expertise collective sur les risques attribuables à un agent pathogène donné et permettent, le cas échéant, de sensibiliser les acteurs de la santé publique à de possibles émergences ou à des associations épidémiologiques insoupçonnées jusqu'alors. Enfin les découvertes originales sur la génétique et la biologie des agents pathogènes et sur leurs interactions avec leurs hôtes, doivent permettre d'améliorer les méthodes de contrôle, voire de les rendre possibles, notamment grâce au développement de vaccins et de tests de diagnostic originaux et innovants. L'émergence récurrente de nouvelles maladies animales ayant des conséquences en santé publique et la forte demande sociétale supposent malgré tout une adaptabilité compatible avec la durée nécessaire à la production de connaissances. C'est ce qui a été fait par exemple pour les maladies à prions (voir plus loin). Au-delà de ces grandes orientations, le travail d'amont doit être soutenu par des actions incitatives, qui ont fait l'objet du présent programme transversal sur les zoonoses du département de Santé animale pour 2003-2004.

Au début de l'année 2003, le département de Santé animale a lancé un appel à propositions de projets transversaux sur les zoonoses infectieuses et parasitaires, en centrant l'intérêt sur les bases moléculaires et

Détection épidémiologique des maladies émergentes en temps réel

Jacques Barnouin, Gwenaël Vourc'h *et al.*
Unité d'Épidémiologie Animale, INRA Clermont-Fd-Theix

Les crises sanitaires majeures des 20 dernières années sont le fait de zoonoses émergentes (ESB chez l'animal, SIDA et SRAS chez l'Homme). La détection et l'analyse épidémiologique précoce de ces maladies sont donc des enjeux sociétaux majeurs. Les conditions favorisant l'émergence de maladies sont liées à des évolutions (brutales ou progressives) qui agissent sur l'apparition de la maladie et/ou sa propagation. La particularité du monde actuel est qu'il est soumis à des changements rapides et nombreux, ainsi qu'à une globalisation accélérée des techniques, pratiques et échanges, susceptibles d'agir sur une large échelle et de favoriser les émergences. Afin d'aller vers une meilleure maîtrise des émergences, l'INRA met en œuvre depuis 2003 le Programme transversal "Épidémiologie et risques émergents" (EpiEmerge). L'objectif est de définir, au travers d'une synergie scientifique incluant des équipes de 9 départements de l'Institut, des stratégies, méthodes et outils de recherche épidémiologiques permettant de mieux maîtriser la pathologie émergente animale et végétale. Au sein d'EpiEmerge, le Programme Epidem ("Epidémiologie et détection des émergences") se propose d'évaluer chez les bovins une stratégie vétérinaire de détection en temps réel, à partir de notifications de cas cliniques, de "syndromes atypiques" (maladies nouvelles ou nouvelles modalités de maladies) et de "maladies modèles" potentiellement émergentes ayant un intérêt en santé publique (maladies vectorisées par les tiques, tumeurs). Le programme, qui repose sur le site "*émergences*" (www.inra.fr/maladies-emergentes), est initié en 2005 dans 2 départements-tests (Allier et Côtes d'Armor) grâce à de nombreuses collaborations, dont la SNGTV (Société nationale des groupements techniques vétérinaires) et les GTV, les ENV (Écoles nationales vétérinaires) et l'InVS (Institut National de Veille Sanitaire).

Une maladie émergente est une maladie dont le taux d'incidence (pourcentage de cas dans une population par unité de temps) augmente significativement sur un temps et un espace de référence, ou risque d'augmenter dans un avenir proche. L'émergence peut :
- être reliée à un agent nouveau - infectieux ou non
- correspondre à une maladie connue se transmettant par de nouvelles modalités (nouveau vecteur, nouvelle pratique agricole, nouvelle habitude de vie)
- concerner un problème de santé connu dont l'incidence augmente parce que ses facteurs de risque sont plus présents (déséquilibres alimentaires, changements climatiques).

Référence : CDC (1998) Preventing emerging infectious diseases. A strategy for the 21st century. Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, 75 p.

cellulaires de la spécificité d'hôte chez les agents responsables de zoonoses. Les études de phylogénie moléculaire montrent en effet que le spectre des hôtes d'un agent donné n'est pas une donnée immuable mais bien plutôt le résultat d'un processus de co-évolution entre agents et hôtes potentiels. Par ailleurs, à un moment donné, ce spectre des hôtes peut être remis brutalement en question à la suite d'évènements de nature moléculaire (par exemple une mutation) ou éco-épidémiologique (par exemple la sortie de l'agent de son biotope d'origine), créant ainsi une rupture d'équilibre, de nature transitoire ou définitive.

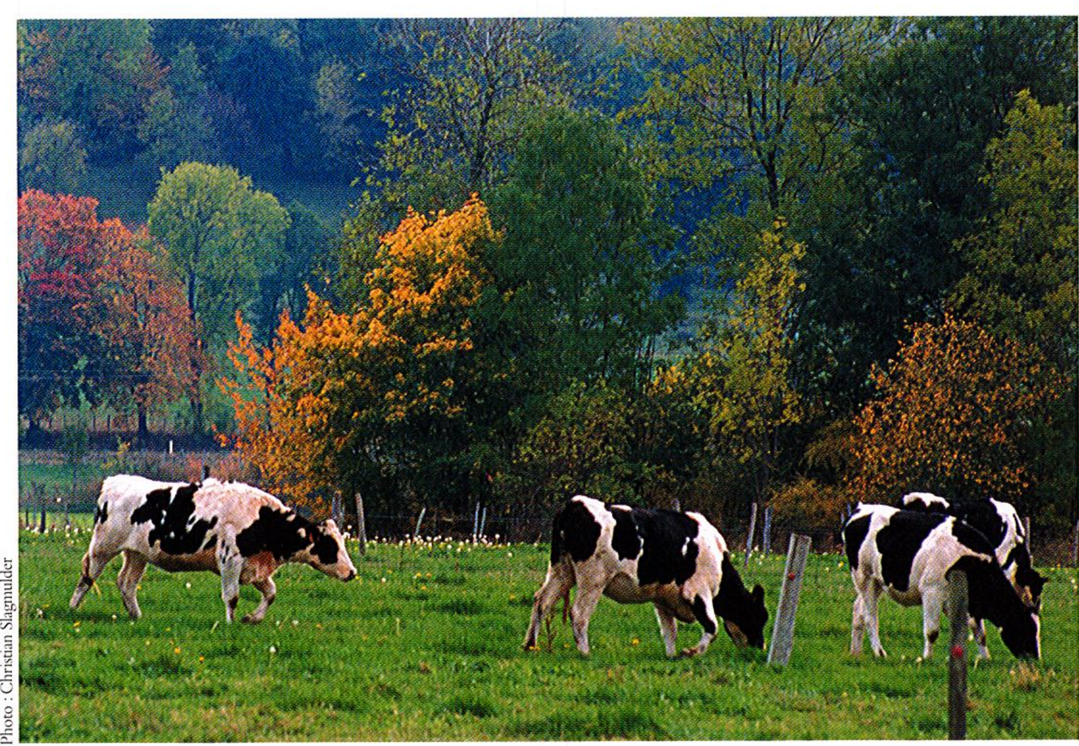
Les programmes de recherche développés à l'INRA, notamment dans le département de Santé animale, couvrent un nombre important d'agents responsables de zoonoses. Parmi tous les champs thématiques traités, les thèmes retenus plus particulièrement sont ceux ayant trait aux bases moléculaires et cellulaires de la spécificité d'hôte. Les projets traitant des prions sont développés à part (voir plus loin). Ceux ayant un objectif essentiellement épidémiologique l'ont été dans le programme transversal EPIEMERGE (voir encart). Le caractère à la fois évolutif et fluctuant de la spécificité d'hôte justifie le souci des responsables de la santé publique de disposer de concepts et d'outils scientifiques leur permettant d'une part, de mieux anticiper le risque d'émergence ou de ré-émergence des agents de zoonoses et d'autre part, d'apprécier spécifiquement l'évolution du risque associé aux réservoirs de variants pathogènes pour l'homme. L'expertise scientifique s'appuie en la matière sur l'épidémiologie, l'analyse moléculaire des agents pathogènes, et la modélisation expérimentale de la spécificité d'hôte dans des modèles cellulaires ou animaux. Dans ce cadre, pouvaient entrer différents types d'approche expérimentale dont :

- les analyses génomiques ou protéomiques comparatives afin d'identifier les marqueurs spécifiquement associés aux variants pathogènes pour l'homme
- les études de phylogénie moléculaire permettant de comprendre la capacité évolutive de certains marqueurs de virulence ou d'adaptation à l'hôte
- la mise au point de nouveaux marqueurs moléculaires permettant de tracer les variants pathogènes pour l'homme d'agents présents dans les réservoirs animaux ou dans l'environnement
- les modèles cellulaires et animaux permettant d'expliquer les mécanismes de spécificité d'hôte et notamment les différences entre l'animal-réservoir et l'homme-cible
- les facteurs liés à l'agent ou à la cellule-cible permettant spécifiquement la reconnaissance de l'hôte : facteurs d'adhésion, récepteurs cellulaires...
- les facteurs expliquant les mécanismes de portage des agents de zoonoses dans certains réservoirs animaux.

Pour le département de Santé animale, ce financement de projets a un caractère **incitatif**. Les projets retenus font apparaître une collaboration synergique entre équipes appartenant à des laboratoires différents, voire à des départements différents.

Plusieurs projets ont été finalement retenus [1] et financés sur deux années : sur des bactéries (*Salmonella/Escherichia coli, Coxiella burnetii, Brucella/Bartonella)* ; sur des virus (*virus respiratoire syncitial, Virus de la maladie de Borna*) ; sur des parasites (*Trichinella, Blastocystis*). Nous résumons ici leurs résultats.

Gilles Aumont, Jean De Rycke,
Pathologie infectieuse et Immunologie, Tours


Photo : Christian Slagmulder

[1] **Projets financés** à la suite de l'appel à propositions d'août 2002 , 13 projets ont fait l'objet de propositions définitives : 6 sur les bactéries, 4 sur les virus et 3 sur les parasites. Sur la base d'une expertise par un ou deux spécialistes, sans liaison directe avec le projet, les membres du comité scientifique les ont classés. La décision finale de financement a été prise par le chef de département. Les critères principaux retenus pour classer les projets ont été les suivants :
- adéquation au champ thématique de l'appel à projets ; sans exclusion des projets posant l'hypothèse de l'existence de nouvelles zoonoses
- caractère incitatif : jeunes équipes, projets originaux, caractère exploratoire
- qualité scientifique de la proposition
- faisabilité et planification des activités
- qualité et complémentarité des collaborations.

www.inra.fr/Internet/Departements/SA/scientifique/projets/transversalites/bilan-zoonoses03.pdf

Résumés des recherches initiées par le département

- Les tiques, agents vecteurs de zoonoses

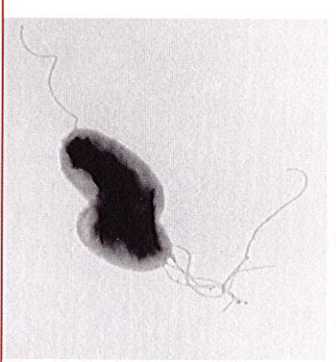
Gwenaël Vourc'h [1], *Lénaïg Halos* [2], *Muriel Vayssier-Taussat* [2], *Henri-Jean Boulouis* [2], *Patrick Gasqui* [1], *Chloé Boyard* [1] *et Jacques Barnouin* [1] *(coordinateur)*
[1] UR Épidémiologie animale, Clermont-Fd-Theix
[2] UMR 956 INRA-AFSSA-ENVA Biologie moléculaire et Immunologie parasitaire et fongique, Maisons-Alfort équipe Bactéries pathogènes vectorisées par les arthropodes : *Bartonella*

Les tiques, vecteurs en France de nombreuses maladies animales (exemple : piroplasmoses), sont également à la base de la transmission de plusieurs zoonoses potentiellement émergentes, par différents pathogènes d'origine bactérienne (exemples : maladies de Lyme, ehrlichiose, rickettsioses) ou virale (exemple : flavivirus de l'encéphalite européenne à tiques).

Présentes sur tout le territoire français, les populations des différentes espèces de tiques ont des variations de densité très importantes, dont les facteurs restent mal connus. Par ailleurs, des cas de présence concomitante de plusieurs agents bactériens vectorisés, pouvant expliquer les formes atypiques de certaines maladies humaines, ont été décrits chez l'homme et les petits mammifères (*Bartonella* et *Borrelia*, *Coxiella* et *Borrelia*), sans que les facteurs qui président à ces co-présences soient élucidés. De plus, les études sur le portage de pathogènes par les tiques sont le plus souvent ciblées sur les milieux boisés, alors que les pâtures sont également propices au développement des tiques, les bovins pouvant être réservoirs de certaines bactéries.

Plusieurs équipes de l'INRA développent des études concernant les pathogènes et les maladies transmis par les tiques. Une des questions primordiales concerne l'étude des variations, puis la modélisation stochastique, de la densité des tiques et du portage bactérien. Dans ce cadre, un programme de recherche ("EPITIQ") a été mis en œuvre depuis 2003. EPITIQ est basé sur une stratégie d'échantillonnage des tiques sur les pâtures fréquentées par les bovins dans le nord-ouest du Puy-de-Dôme (Combrailles), ainsi que sur des stratégies de détection moléculaire des bactéries dont la transmission par les tiques est connue ou suspectée (*Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia* sp. du groupe boutonneux, *Coxiella burnetii* et *Bartonella* sp.). La détection moléculaire est réalisée par PCR spécifiques pour chacune des bactéries ciblées ou par des méthodes innovantes de détection sans *a priori* sur les espèces recherchées. Les méthodes sans *a priori* sont basées sur l'amplification d'un gène conservé chez les procaryotes (le gène de l'ARN ribosomal 16S), composé de séquences conservées chez tous les procaryotes, mais aussi de séquences variables et hyper variables spécifiques d'un genre ou d'une espèce bactérienne. La mise en évidence de cette variabilité est réalisée par différentes techniques dont la TTGE (Temporal Temperature Gradient Electrophoresis).

La grande majorité des tiques récoltées au cours des années 2003 et 2004 sont des *Ixodes ricinus*, principalement des nymphes. *I. ricinus* a un cycle de développement à trois hôtes différents (larves : surtout petits mammifères ; nymphes : petits ou grands mammifères ; adultes : surtout grands mammifères) et est peu spécifique. L'analyse des variations des densités de nymphes dans les pâtures a montré qu'un des facteurs prépondérants expliquant les variations de densité était la présence de bois et le nombre de tiques dans le bois proche des pâtures ; ce qui suggère des mouvements de tiques entre pâtures et bois. L'analyse par PCR spécifiques du portage bactérien a mis en évidence la présence dans les tiques de différentes bactéries : *A. phagocytophilum*, *B. burgdorferi*, *Rickettsia* sp., *C. burnetii* et *Bartonella* sp.. De plus, nous avons détecté des co-infections par deux ou trois bactéries. L'utilisation de techniques de détection globale des bactéries portées par les tiques a permis de détecter les mêmes bactéries, ce qui valide ces techniques pour la détection d'agents pathogènes, mais aussi des bactéries symbiotes de tiques et des bactéries de l'environnement. Ces résultats montrent tout l'intérêt de l'utilisation des méthodes d'analyse globale des bactéries pour la compréhension des facteurs écologiques (faune sauvage, animaux domestiques, habitats) qui sous-tendent la forte variabilité de densité de l'espèce *Ixodes ricinus* de tiques. La modélisation des facteurs de milieu qui expliquent la présence des tiques et des pathogènes vectorisés sera au centre de nos recherches dans la période à venir.


Photo : ©ENVA

Bartonella chomelii décrite en 2003.

Co-infections *Bartonella/Borrelia/Babesia*
Résultats

Détection par PCR sur une cohorte de 94 *Ixodes ricinus* collectées en France (Nord)
- Co-infection *Bartonella/Borrelia*......1%
- Co-infection *Bartonella/Babesia*......4%
- Co-infection *Bartonella/Borrelia/Babesia*.............1%

D'après Halos *et al.* 2004

Bactéries

- Identification de marqueurs spécifiques d'espèces et de biovars de *Brucella* et de *Bartonella* par analyse protéomique

Michel S. Zygmunt *(coordinateur)*,
UMR 918 Pathologie infectieuse et Immunologie, Tours
Muriel Vayssier-Taussat,
UMR 956 INRA-AFSSA-ENVA Biologie moléculaire et Immunologie parasitaire et fongique, Maisons-Alfort
(voir aussi la synthèse Brucellose, partie 2, page 24)

Le groupe des alpha2-protéobactéries (ou bactéries pourpres) renferme différents genres bactériens qui ont la capacité de vivre en étroite association avec des cellules eucaryotes. C'est le cas de *Brucella* et *Bartonella*, pathogènes intracellulaires facultatifs des mammifères. Des données récentes montrent qu'il existe de nombreux points communs entre les mécanismes moléculaires de l'interaction hôte-bactérie pour *Brucella* et *Bartonella*.

Le genre *Brucella* comprend 6 espèces ; cette classification est essentiellement basée sur la spécificité d'hôte, les voies métaboliques, la sensibilité à certains phages, et le typage sérologique : *B. melitensis* infecte préférentiellement les ovins et les caprins, *B. abortus*, les bovins, *B. suis*, les porcs, *B. ovis* les béliers, *B. canis*, les chiens et *B. neotomae*, un petit rat du désert. Il existe très peu de marqueurs moléculaires spécifiques d'espèces et de biovars permettant de les différencier. Par typage classique, la différenciation des biovars 1 et 2 de *Brucella suis* repose sur un seul caractère, la production d'hydrogène sulfuré. Il est donc fréquent que des erreurs de typage soient faites. De plus, l'origine de la souche ne peut être d'aucune aide car l'hôte est le même pour les 2 biovars, le porc et, éventuellement le sanglier. Le biovar 1 de *Brucella suis* est pathogène pour l'homme alors que le biovar 2 n'a pas de pathogénicité démontrée. Il est donc d'un grand intérêt de disposer de marqueurs moléculaires spécifiques permettant de les distinguer.

Dix-sept espèces de *Bartonella* ont été décrites à ce jour. De nombreux animaux sauvages et domestiques sont des réservoirs de *Bartonella*. Certaines espèces (*B. henselae*,

B. quintana, B. clarridgae, B. bacilliformis) infectent l'homme et sont à l'origine de zoonoses émergentes et graves. D'autres (*B. bovis, B. schoenbuchensis...*) ne semblent pas être à l'origine de pathologies chez l'homme ou l'animal.
L'analyse de la séquence totale du génome de *Brucella* et l'analyse de la séquence partielle de celui de *Bartonella* ont apporté une grande quantité d'informations comme une similarité dans les facteurs potentiels de pathogénicité. Mais elles ne peuvent expliquer les mécanismes cellulaires impliqués dans la spécificité d'hôte et dans la différence de virulence.
Ainsi l'analyse protéomique différentielle permet de faire la distinction entre les différentes souches de *Brucella suis* dont l'une est pathogène pour l'homme et entre diverses espèces de *Bartonella*. Cette analyse a permis de compléter une carte de référence des protéines exprimées par les souches de *Brucella* et a contribué à identifier des marqueurs spécifiques de ces différentes souches étudiées. C'est le cas de la protéine périplasmique de liaison aux oligopeptides qui n'est exprimée que chez la souche de référence *Brucella melitensis* 16M. Une autre, identifiée comme un transporteur ABC de sucre, est uniquement exprimée chez *B.suis 1*. La dihydroxyacetone kinase est, quant à elle, uniquement exprimée chez *B.suis 2*. Ce résultat demande à être confirmé sur d'autres espèces de *Brucella* et leur rôle dans la pathogénicité devra être étudié.
Cette méthode permet donc d'identifier des marqueurs spécifiques de biovars, elle s'applique aussi à *Bartonella*. L'analyse protéomique des souches de *Bartonella* nous a permis de constituer un fichier préliminaire pouvant, à terme, constituer une carte de référence des protéines exprimées par ces souches. Il est encourageant de constater que les premiers essais d'immuno-empreinte avec des sérums de souris infectées ont mis en évidence des protéines impliquées dans la réponse immune humorale dont une associée à l'invasion. Cette approche pourrait aider à mieux connaître les protéines ayant un rôle dans les relations de la bactérie avec la cellule-hôte et permettre l'étude des mécanismes en jeu.
Plus récemment, un nouveau risque pour la santé publique est apparu avec l'isolement de *Brucella* chez les mammifères marins comme les pinnipèdes et les cétacés. Ces souches "marines" sont aussi très pathogènes pour l'homme.
L'émergence de ces souches a conduit à analyser de façon plus générale la biodiversité des *Brucella* en recherchant la variabilité phénotypique et génotypique des différentes espèces et biovars. Cette étude devrait conduire à une meilleure connaissance des mécanismes d'acquisition des facteurs de pathogénie au sein de la famille des alpha2-protéobactéries à laquelle les *Brucella* appartiennent.

- Analyse génomique comparative de souches de *Coxiella burnetii* isolées à partir d'hôtes de différentes espèces

Nathalie Arricau-Bouvery [1] (coordinatrice),
Muriel Vayssier-Taussat [2], *A. Bejaoui* [1], *Christelle Bodier* [1]
et *Armel Souriau* [1]
[1] UMR 918 Pathologie infectieuse et Immunologie, Tours
équipe Chlamydiose et Fièvre Q
[2] UMR 956 INRA-AFSSA-ENVA Biologie moléculaire
et Immunologie parasitaire et fongique, Maisons-Alfort
équipe Bactéries pathogènes vectorisées
par les arthropodes : *Bartonella*
(voir aussi la synthèse Fièvre Q, partie 2, page 19)

Coxiella burnetii, bactérie à large spectre d'hôte, est l'agent étiologique de la fièvre Q. Les manifestations cliniques chez l'homme sont très variées avec une forme aiguë (état grippal, myalgies, pneumonies, hépatites) et une forme chronique grave (endocardite). Chez les ruminants la fièvre Q se manifeste principalement par des avortements, des mises bas d'animaux chétifs et des problèmes d'infertilité, mais des cas de pneumonies et arthrites peuvent également survenir. Les principaux réservoirs de *Coxiella* sont les animaux de rente, les animaux domestiques, les animaux sauvages, les oiseaux mais également les arthropodes (tiques). Bien que la voie principale de contamination soit la voie aérienne, une tique contaminée peut transmettre la fièvre Q aux animaux, et plus rarement à l'homme, par ses piqûres ou ses déjections. Une étude récente a montré que 3 souches de *Coxiella burnetii* isolées à partir de tiques étaient plus virulentes pour la souris que 2 souches isolées à partir de lait de bovins. Le facteur-hôte pourrait donc jouer un rôle important dans la virulence des souches et l'établissement des différentes formes de la maladie (aiguë ou chronique). *C. burnetii* est une bactérie intra-cellulaire stricte. Son isolement et sa culture sont très difficiles en laboratoire ; ce qui explique que peu d'études aient été réalisées sur la variabilité génétique de ses différentes souches. Afin d'identifier des marqueurs spécifiquement associés aux variants pathogènes pour l'homme, nous avons entrepris l'étude de la variabilité génétique au sein du genre *Coxiella* par l'analyse de souches provenant d'hôtes ou de manifestations cliniques différents. Les prélèvements étudiés sont d'origines géographiques variées : différents départements de France et Afrique.
Sur 187 échantillons de tiques ou pools de nymphes testés par la technique d'amplification PCR-TGGE pour la détection d'ADN bactérien, 13 présentent des amplifications d'ADN migrant au même niveau que les amplicons* de *C. burnetii*. Parmi ces échantillons, 11 correspondent à une bactérie symbiote de tiques proche de *C. burnetii* et 2 sont porteurs d'ADN de *C. burnetii*. Cependant, les deux échantillons étant composés de nymphes, aucune nouvelle souche issue de tique n'a pu être isolée car les nymphes entières ont été broyées pour en extraire l'ADN. La caractérisation moléculaire des souches de *C. burnetii* a toutefois été réalisée sur des souches isolées de ruminants et a montré que, hormis les souches bovines proches phylogénétiquement, les souches isolées de caprins ou d'ovins ne présentaient pas de caractères moléculaires spécifiques suffisants pour les relier à une spécificité d'hôte. Les techniques utilisées ont permis de différencier et de classer les souches de *C. burnetii*. Le génotypage est particulièrement utile lors des études épidémiologiques pour identifier la source de l'infection et prendre des mesures sanitaires.

- *Escherichia coli* entérohémorragiques
étude de l'expression des gènes impliqués dans les interactions hôte/bactérie afin de caractériser des marqueurs moléculaires associés aux variants pathogènes pour l'homme

Christine Martin [1] (coordinatrice), *Francis Repoila* (Institut Pasteur) [2], *Alain Gobert* [1], *Maria-Halima Laaberki* [2]
[1] UR 454 Microbiologie et risque zoonotique, Clermont-Fd-Theix
équipe Pouvoir pathogène des *Escherichia Coli*
[2] UMR 1225 INRA-ENVT Microbiologie moléculaire, Toulouse
équipe Mécanismes moléculaires et cellulaires de la pathogénicité d'*Escherichia coli*



Sanglochon.

* Amplicon correspond au produit d'amplification obtenu après PCR (fragment d'ADN amplifié).

Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC), dont le principal réservoir est le bovin sain, sont des pathogènes émergents responsables de toxi-infections alimentaires pouvant conduire chez l'homme à des pathologies graves (colites hémorragiques, syndromes hémolytique et urémique). Ces bactéries qui produisent des Shiga toxines appartiennent à un groupe plus large appelé STEC (Shiga toxin producing *E. coli*) dont toutes les souches ne sont pas pathogènes. L'objectif de ce projet est de comprendre le "dialogue moléculaire" qui s'établit entre la bactérie et son hôte afin de caractériser les mécanismes déterminant le tropisme d'hôte et le pouvoir pathogène. Il s'agit, à terme, de caractériser des marqueurs moléculaires spécifiques des souches pathogènes pour l'homme afin de les dépister dans les réservoirs animaux et les produits alimentaires. La lignée de cellules épithéliales intestinales T84 a été infectée par des STEC appartenant à différents sérotypes isolés de cas cliniques ou de bovins sains afin de caractériser la réponse pro-inflammatoire. En parallèle, les régulateurs contrôlant l'expression des gènes impliqués dans l'adhésion des bactéries aux cellules de l'hôte et dans la perturbation de la signalisation cellulaire (gènes portés par le locus d'effacement des entérocytes, LEE) ont été déterminés. L'ensemble des résultats suggère que des souches phylogénétiquement éloignées ont développé des mécanismes différents pour interagir avec l'hôte tant au niveau de la réponse inflammatoire que de la régulation de l'expression des gènes du LEE. Ces différences concernent aussi bien la nature des facteurs de virulence que leurs mécanismes de régulation. Ce travail ouvre des perspectives intéressantes mettant en relation le pouvoir pathogène des souches STEC avec l'activation de la réponse immunitaire innée de l'hôte et/ou l'expression différentielle des gènes de virulence.

Photos : Maryvonne Moulin-Schouleur

Adhésion d'*Escherichia coli* aux cellules du pharynx de poulet (microscope optique).



Fimbriae F1 chez *Escherichia coli* (microscope électronique, coloration négative).

- Étude fonctionnelle de la région génomique *xseA-hisS* commune à l'espèce *Salmonella enterica* subsp. Enterica, à certaines souches d'*Escherichia coli* pathogènes aviaires et à des souches d'*Escherichia coli* impliquées dans des pathologies extra-intestinales chez l'homme

Nathalie Chanteloup [1] (coordinatrice), *Isabelle Virlogeux-Payant* [2], *Sandrine Rochereau* [2], *Iman Chouikha* [1], *Pierre Germon* [1], *Catherine Schouler* [1], *Joël Trotereau* [2], *Philippe Velge* [2] et *Maryvonne Moulin-Schouler* [1]

[1] UR 86 Bioagresseurs, Santé, Environnement, Tours équipe Pathologie bactérienne

[2] UR 918 Pathologie infectieuse et Immunologie, Tours équipe Contaminations microbiennes des matières premières alimentaires d'origine animale

(voir aussi la synthèse Salmonellose, partie 2, page 15).

Certains *Escherichia coli* impliqués dans des pathologies extra-intestinales chez l'homme et chez les animaux (espèces aviaires) et *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, pathogène intestinal pour l'homme et les animaux, possèdent des régions génomiques communes liées à la virulence.

L'une de ces régions a été identifiée à la fois chez une souche d'*E. coli* pathogène aviaire (BEN2908) et chez une souche de *Salmonella* Enteritidis (1009). Cette région est absente du génome de la souche de référence non pathogène MG1655 d'*E. coli* K-12 et présente dans le génome de deux souches de référence d'*E. coli* impliquées dans des pathologies extra-intestinales chez l'homme (méningite du nouveau-né et infection urinaire). Les résultats préliminaires ainsi que les homologies de séquences observées suggéraient très fortement un rôle de la région étudiée (entre les gènes *xseA-hisS*) dans l'adhésion bactérienne aux cellules eucaryotes et permettaient de faire l'hypothèse d'un rôle de cette région dans la capacité des souches d'*E. coli* et de *Salmonella* à coloniser le poulet et l'homme.

L'objectif du programme était de déterminer le rôle de la région *xseA-hisS* de ces 2 bactéries pathogènes dans la virulence et le portage asymptomatique chez les volailles et leur implication potentielle dans la spécificité d'hôte. Les résultats obtenus prouvent l'implication de la région *xseA-hisS* dans la virulence, au moins chez *Salmonella*. Aucune spécificité d'hôte n'a été observée. Chez *E. coli*, les résultats ne permettent pas encore de tirer une conclusion définitive sur le rôle de la région *xseA-hisS* dans la virulence. Les résultats obtenus chez *Salmonella* et les données de la littérature orientent les recherches vers la piste intestinale.

Parasites

- Phylogénie moléculaire de Blastocystis isolés chez différents hôtes basée sur la comparaison des séquences d'ARN ribosomique 18S : implications sur la spéciation, la spécificité d'hôte et le caractère zoonosique de ce parasite

Lionel Zenner [1] (coordinateur), *Eric Viscogliosi* [2], *Christophe Noël* [2], *Fabienne Dufernez* [2], *Delphine Gerbod* [2], *François Peyron* [3]

[1] UMR 958 DGER-INRA Protozoaires entéricoles et Parasites des Volailles, École nationale vétérinaire de Lyon

[2] UMR 547 INSERM-IPL, Institut Pasteur de Lille. Équipe *Trichomonas* et phylogénie moléculaire

[3] Service de Parasitologie et de Pathologie exotique de la Croix Rousse, Lyon

Découvert chez l'homme en 1845, *Blastocystis* est un parasite intestinal dont la pathogénicité est encore mal déterminée mais qui est considéré comme responsable de troubles digestifs par la plupart des études.

Sa position dans la taxonomie est restée longtemps controversée. Des études de phylogénie moléculaire basées sur la comparaison des séquences de l'ARN ribosomique 18S ont démontré qu'il pouvait être classé au sein du groupe des Straménopiles, un groupe d'eucaryotes unicellulaires comportant entre autres des algues brunes, des chrysophytes, des oomycètes et des diatomées, et proche du groupe des *Alveolata* (*apicomplexa*, ciliés et dinoflagellés).

Ce parasite suscite de nos jours un intérêt croissant car il est également rencontré chez de nombreuses espèces de vertébrés (primates, porcs, oiseaux de volière, volailles, amphibiens, rongeurs, ruminants, reptiles...) avec parfois une incidence très élevée (70% chez les chiens et chats en Australie, 75% chez les singes au Japon, 92% des poulets en Australie). La prévalence chez les humains est variable selon les enquêtes et va de 1,5 à 50% selon les zones géographiques. Alors que certains auteurs ont proposé (ou proposent encore) une liste d'espèces de *Blastocystis* en fonction de critères assez discutables (espèces-hôtes, caractères de culture *in vitro*...), le consensus actuel tend plutôt à distinguer *B. hominis* chez l'homme et *Blastocystis* sp. chez les animaux.

Des études de biologie moléculaire ont été faites à partir de différents isolats de *B. hominis* et elles suggèrent une

diversité génétique avec la caractérisation d'au moins 8 groupes différents entre tous ces isolats humains, pourtant identiques sur le plan morphologique. De plus, une étude épidémiologique chez l'homme a montré que les personnes travaillant avec des animaux ont une prévalence supérieure à celle observée dans une population témoin sans contact avec les animaux.
Sur la base de la diversité génétique des isolats humains, du grand nombre d'espèces-hôtes et de cette dernière étude épidémiologique, nous nous sommes donc interrogé sur la notion d'espèce au sein du genre *Blastocystis* et sur le caractère zoonosique de ce parasite.
Pour répondre à cette question, nous avons isolé des souches de *Blastocystis* d'hôtes naturellement infectés, séquencé et analysé les séquences du gène codant pour les ARNr 18S de *Blastocystis* provenant de diverses espèces mais dont la séquence du gène EF-1α était déjà connue. Ces séquences ont ensuite été analysées avec toutes les autres séquences déjà publiées dans les bases de données pour construire un arbre phylogénétique comportant un maximum de séquences.

Cet arbre phylogénétique a permis d'identifier clairement 7 groupes, confirmés par l'analyse comparée des séquences du gène EF-1α. Il en ressort que, malgré un aspect morphologique très semblable, il existerait 12, ou plus, espèces dans le genre *Blastocystis*. De plus, parmi les groupes définis lors de cette analyse, 6 comprennent des isolats humains et animaux, suggérant de manière forte :
• la faible spécificité de certaines espèces de *Blastocystis*
• l'existence d'espèces zoonotiques
• enfin, l'existence d'un gros réservoir animal pouvant favoriser la transmission chez l'homme de ce pathogène.
En conclusion, d'après nos données :
• il existerait donc des espèces de *Blastocystis* communes à divers hôtes
• un même hôte peut héberger plusieurs espèces de *Blastocystis*
• plusieurs espèces animales sont susceptibles d'être réservoirs de *Blastocystis* pour l'homme.

- Virulence de *Trichinella*

Rôle de la kystogénèse et de la dédifférenciation de la cellule-hôte et comparaison avec un autre nématode parasite intra-cellulaire des végétaux : *Meloïdogynes*

Pascal Boireau [1] *(coordinateur)* et *Marie-Noëlle Rosso* [2]
Jean Dupouy-Camet [3]
[1] UMR 956 INRA-AFSSA-ENVA-UPVN Biologie moléculaire et immunologie parasitaires et fongiques, Maisons-Alfort
équipe Zoonose parasitaire transmise par les viandes : les trichinelloses
[2] UR Interactions plantes micro-organismes et santé végétale, Sophia-Antipolis
[3] Laboratoire de parasitologie-mycologie, UPRESEA 3623 Hôpital Cochin, université René Descartes Paris
(voir la synthèse Trichinellose, partie 2, page 21)

Trichinella est un nématode parasite agent de zoonose transmis par les viandes et à localisation intra-cellulaire stricte. Deux espèces ayant une biologie contrastée cœxistent en France : *T. spiralis* ayant une forte prolificité génère une pathologie grave chez l'homme, avec une persistance élevée (>8 ans) dans les muscles ; *T. pseudospiralis* a une prolificité plus faible et peut entraîner une pathologie sérieuse chez l'homme mais avec une plus faible rémanence dans les muscles (montrée dans différentes espèces animales). Cette dernière espèce ne génère pas de capsule autour de la cellule nourricière (fibre musculaire transformée par le parasite) à l'inverse de *T. spiralis*. Il semblait donc intéressant de pouvoir les différencier. Des anticorps monoclonaux différenciant l'espèce *T. spiralis* de l'espèce *T. pseudospiralis* au stade encapsulée ont été sélectionnés. Les gènes spécifiquement exprimés dans chacune de ces 2 espèces ont été recherchés pour le seul stade musculaire générant la cellule nourricière. L'analyse des séquences de nombreux clones putatifs n'a pas permis l'identification de gènes structuraux attendus impliqués dans la kystogénèse. Cependant, une séquence spécifique de *T. pseudospiralis* a été sélectionnée (ARN mitochondrial) et peut être utilisée pour le typage de *Trichinella*. Des déterminants antigéniques communs entre *Trichinella* et *Meloïdogynes* (nématode intra-cellulaire des végétaux) ont été recherchés. Les résultats montrent que, seuls, trois anticorps monoclonaux immunoréactifs vis-à-vis du stade enkysté de *Trichinella* ont généré un signal avec *Meloïdogynes*. Leur utilisation peut être envisagée pour identifier et caractériser des protéines homologues. D'autres anticorps restent à analyser. *Trichinella* et *Meloïdogynes* partagent des déterminants antigéniques et donc potentiellement des antigènes communs malgré leur éloignement phylogénique.

Virus

- Étude des bases moléculaires de la spécificité d'espèce du virus respiratoire syncytial*

Jean-François Eléouët [1] *(coordinateur)*, *Nathalie Castagné* [1], *Éric Baranowski* [2], *Martine Deplanche* [2], *Gilles Meyer* [2], *Bernard Charley* [3], *Catherine Dubuquoy* [3], *Sabine Riffault* [3]
[1] UR 892 Virologie et immunologie moléculaires, Jouy-en-Josas équipe Virus et Interactions cellulaires
[2] UMR 1225 Interactions hôtes-agents pathogènes, Toulouse équipe Physiopathologie de l'infection par le virus respiratoire syncitial, ENVT
[3] UR 892 Virologie et Immunologie moléculaires, Jouy-en-Josas équipe Immunobiologie des viroses des ruminants.

Les virus respiratoires syncytiaux humain (VRSH) et bovin (VRSB) sont responsables de la bronchiolite du nouveau-né chez ces deux espèces. Ces deux pathogènes, qui appartiennent au genre Pneumovirus de la famille *Paramyxoviridae*, présentent une série de caractéristiques biologiques communes mais diffèrent cependant au niveau de leur spécificité d'hôte. L'objectif principal de ce programme de recherche est d'identifier les déterminants génétiques responsables de la spécificité d'hôte de ce virus respiratoire et d'évaluer la potentialité du virus bovin à franchir la barrière d'espèce. Deux approches complémentaires ont été envisagées :
• identifier les déterminants génétiques responsables du tropisme cellulaire du VRSB grâce à l'étude des modifications génétiques sélectionnées lors du processus d'adaptation du virus aux cellules humaines
• étudier la capacité du VRSB à infecter des cellules de souris insensibles aux interférons de type I (alpha/bêta) ou souris IFNAR-/-.

* Relatif à un protoplasme contenant plusieurs noyaux qui ne sont pas séparés les uns des autres par une membrane cytoplasmique. Cela donne l'apparence de cellules à plusieurs noyaux et d'un tissu dépourvu de frontières entre les cellules.

Infection de cellules de poumon provenant de souris 129 wt par le VRSB révélé par immunofluorescence (vert) et marquage des noyaux cellulaires (bleu)

Infection de cellules de poumon provenant de souris A129 IFNAR-/- par le VRSB révélé par immunofluorescence (vert) et marquage des noyaux cellulaires (bleu)

Souris. Traité des plantes et animaux décrits par Geoffroy Médecin, dessinés d'après nature par Mr de Garsault. Ed. P.F. Didot le Jeune. Tome V. 1767.

La capacité de réplication du VRSB en culture de cellules a été étudiée. Les isolats de terrain du VRSB possèdent un tropisme cellulaire restreint et leur propagation en cultures de cellules épithéliales humaines (HEp-2) aboutit généralement à une extinction du virus. Curieusement, il a été observé que la propagation de ces souches virales en cellules de hamster BHK-21, déficiente pour la réponse interféron de type I, sélectionne rapidement des populations virales qui se caractérisent par une remarquable capacité d'adaptation aux cellules épithéliales humaines. Le séquençage complet du génome de l'isolat de terrain W2 au cours des différentes étapes d'adaptation de ce virus aux cellules humaines a permis d'identifier plusieurs altérations génétiques associées au franchissement de la barrière d'espèce par le VRSB. Ces mutations se situent au niveau de la protéine de fusion F et de la phosphoprotéine P.

D'autre part, après infection *ex vivo* de cellules provenant de poumon de souris IFNAR -/- il a été établi que, contrairement aux cellules dérivées de souris sauvages sensibles aux interférons de type I, celles-ci étaient parfaitement infectables par le VRSB. Ceci montre l'importance de la réponse interféron de type I dans le franchissement de la barrière d'espèce pour le virus respiratoire syncytial.

Ces résultats ont permis de montrer la capacité du VRS à franchir la barrière d'espèce *in vitro*. La prochaine étape consistera à infecter des souris IFNAR-/- par le VRSB. Les souris déficientes dans leur réponse aux interférons devraient être théoriquement plus sensibles à ce virus. Un bon modèle murin pour le VRSB, développant en particulier des signes cliniques et la maladie, pourrait faciliter grandement certains domaines de recherche tels que la mise au point d'antiviraux.

- Épidémiologie moléculaire de la maladie de Borna en France

Stéphan Zientara (coordinateur), Gwenaëlle Dauplin,
UMR 1161 INRA-AFSSA-ENVA, Virologie des équidés et des affections virales émergentes et ré-émergentes
Laboratoire de virologie EA 2968, université Bordeaux 2 Victor Segalen
(voir la synthèse Maladie de Borna, partie 2, page 27)

Les travaux menés à l'UMR 1161 AFSSA/INRA/ENVA visent à développer des outils de diagnostic moléculaires et sérologiques afin de préciser la prévalence et l'incidence de l'infection chez l'homme et chez les animaux. Ainsi, un test ELISA utilisant la protéine p24 recombinante a été développé. L'évaluation des propriétés antigéniques des protéines recombinantes p40 et p16 est en cours. Enfin, sont effectuées des tentatives d'isolement de souches de BDV à partir d'échantillons biologiques dans lesquels le génome viral a été mis en évidence.

En premier lieu, il s'agit d'étudier la phylogénie des souches virales de BDV amplifiées et/ou isolées en France chez différentes espèces animales et chez l'homme. La caractérisation génétique des souches devrait permettre de mieux connaître les mécanismes de transmission et les modalités de circulation inter et intra-espèces du virus, d'identifier un éventuel réservoir commun du virus (oiseaux sauvages, rats), d'essayer de préciser le cycle biologique du BDV et d'en rechercher un nouveau génotype. ■



Maladies qui peuvent affecter les organes du cheval. Traité d'hippiatrie, Egypte, 1766.

Département des Manuscrits orientaux. Art du livre arabe. ©BNF

4. Organiser la recherche sur les maladies émergentes en France

L'état sanitaire d'une population animale ou végétale est la résultante d'un équilibre instable entre de nombreux facteurs susceptibles de changements significatifs et avérés : climats et environnement, plasticité et adaptation des populations d'agents pathogènes, organisation des filières et mouvements des populations et des produits végétaux et animaux, pratiques agronomiques et vétérinaires, police sanitaire et gestion du risque. Les crises sanitaires successives de ces dernières années ont donc replacé l'émergence et la ré-émergence des maladies des animaux et des végétaux au centre des préoccupations des organismes de recherche en réponse aux attentes souvent pressantes des gestionnaires du risque et plus généralement de la société.
Comment organiser nos dispositifs de recherche pour faire face aux maladies émergentes alors que par nature, l'émergence se réfère à l'inconnu, à l'inattendu et au non programmable ? Quelle organisation proposer, à la lumière des expériences accumulées, pour apporter des réponses efficaces et rapides face à la prise de conscience croissante de cette incertitude ?

Ces quelques pages tentent d'extraire de l'analyse rétrospective des recherches menées sur les maladies à prions des ruminants à la suite des crises successives induites par la "maladie de la vache folle", quelques enseignements sur la façon dont la recherche et l'expertise peuvent être organisées face à ces incertitudes.

Les encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST) ont été une préoccupation majeure des chercheurs et des gestionnaires du risque en Europe ces dix dernières années. La recherche a été vigoureusement mobilisée et a été en mesure d'apporter des réponses, au moins partielles, aux grandes questions qui lui étaient adressées.
Après une description rapide des événements qui ont jalonné l'histoire des ESST en France et le positionnement des pouvoirs publics pour y répondre, des explications seront apportées pour expliquer le relatif succès de la recherche en la matière. Nous tenterons ensuite de tirer des enseignements généraux de cette expérience.

Le contexte français des maladies à prions

Les agents des encéphalopathies spongiformes transmissibles sont responsables de maladies neurodégénératives fatales chez l'homme (maladie de Creutzfeldt-Jakob, insomnie fatale familiale, syndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker, Kuru) et chez les animaux (tremblante ovine et caprine, encéphalopathie spongiforme bovine, encéphalopathie spongiforme féline, encéphalopathie transmissible du vison, dépérissement chronique des cervidés). L'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) est une maladie nouvelle apparue en 1985 au Royaume-Uni, qui s'est propagée ensuite dans les autres pays européens et en particulier en France (premier cas identifié en 1990). La tremblante des ovins est en revanche connue depuis plus de deux siècles en Europe. Elle se distingue de l'ESB par une transmission horizontale et verticale significative, une distribution importante de la protéine prion pathologique PrPsc dans les tissus périphériques et l'existence chez les ovins d'une variabilité génétique de la sensibilité à cette pathologie (les moutons homozygotes pour un des allèles -ARR- du gène PrP sont considérés comme étant résistants à la tremblante). L'agent de l'ESB est transmissible des bovins à l'homme chez lequel il provoque une forme particulière (variant) de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (vMCJ). En revanche, l'agent de la tremblante ovine semble sans danger pour l'homme. L'émergence potentielle de nouvelles formes de tremblante est une préoccupation importante des chercheurs et des autorités sanitaires. On ne peut exclure en effet que l'agent de l'ESB ait contaminé des ovins, ni que certaines formes de tremblante soient capables d'infecter les animaux présumés résistants.

- Les réseaux de surveillance

Face à ces émergences avérées ou potentielles, des systèmes de surveillance et des réglementations ont été installés. Plusieurs réseaux ont été mis en place en France.
Le "réseau national de surveillance des maladies de Creutzfeldt-Jakob (CJD) et maladies apparentées" fonctionne depuis 1992. Il distingue différentes formes de CJD, dont le nouveau variant, qui serait transmis par l'agent de l'ESB. Douze cas seulement de ce vMCJ ont été détectés en France [1].

Le premier cas d'ESB a été détecté en France, à la suite de la mise en place d'un système de surveillance clinique obligatoire fin 1990 (surveillance passive). En

[1] Trois personnes en vie et 9 décédées (1 en 1996, 1 en 2000, 1 en 2001, 3 en 2002, 2 en 2004 et 1 en 2005). *(Données d'avril 2005 du Réseau national de surveillance des MCJ et maladies apparentées).*



Dictionnaire pittoresque d'histoire naturelle et des phénomènes de la nature. Tome cinquième, rédigé par une société de naturalistes sous la direction de F.-E. Guérin. Paris Au bureau de souscription n°4, 1837.

2000, une étude pilote utilisant un test rapide (Prionics) réalisé sur un prélèvement de tronc cérébral a été réalisée sur près de 50 000 bovins morts ou euthanasiés pour maladie dans l'ouest de la France. Cette étude a montré que la surveillance clinique seule était insuffisante pour détecter correctement l'ensemble des animaux atteints, à l'instar de ce qui avait été démontré précédemment en Suisse. À la suite de la deuxième crise de la vache folle (novembre 2000), la France, comme l'ensemble de l'Union européenne, a mis en place un important système de surveillance active basé sur l'utilisation de tests rapides (Prionics, Bio-rad, Enfer). À partir du mois de janvier 2001, tous les animaux de plus de 30 mois (et plus tard de plus de 24 mois) abattus pour la consommation humaine ont été testés. À partir de janvier 2002, c'est la totalité des populations dites "à risque" qui est, à son tour soumise au dépistage. Les données collectées depuis cette période montrent qu'environ 75% des cas détectés en France le sont par la surveillance active. Depuis 2001, on observe une diminution du nombre de cas d'année en année, consécutive vraisemblablement aux renforcements des mesures de lutte contre la maladie prises en 1996 et notamment l'interdiction effective des farines animales pour l'alimentation des ruminants. Depuis le 1er décembre 1990, le réseau clinique a permis de confirmer 333 cas parmi plus de 1500 suspicions, avec un pic en 2000 et 2001 (102 et 91 cas contre 43 en 2002 et 13 en 2003). Plus de 9 millions de tests (9 355 965) ont été réalisés dans le cadre de la surveillance active, permettant de détecter 563 cas supplémentaires (60 en 2000, 183 en 2001, 196 en 2002, 124 en 2003).
La tremblante faisait l'objet depuis 1990 d'un début d'épidémio-surveillance dans le sud-est de la France, organisé par l'AFSSA de Nice (ex CNEVA) sur la base

du volontariat. La découverte du variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob VCJD chez l'homme au Royaume-Uni a précipité la mise en place d'un système de surveillance national obligatoire : dans un premier temps, un réseau clinique mis en place en juin 1996 (328 foyers détectés, un foyer pouvant comporter plusieurs cas), surveillance active limitée en abattoir et équarrissage (103 cas détectés parmi 132 000 tests en 2002 et 2003).

- Les aspects réglementaires

Les réglementations françaises et européennes ont évolué au cours du temps, à la lumière d'avis d'expert rendus par des comités *ad hoc*, et ont concerné tous les aspects de la filière.

Pour ce qui concerne l'alimentation du bétail et la commercialisation des produits animaux, il faut retenir l'interdiction d'importer les farines de viande et d'os (FVO) en provenance du Royaume-Uni (1989), puis l'interdiction totale de l'utilisation de FVO et de protéines d'origine animale (1990 pour les bovins, 1994 pour tous les ruminants), la définition de matériaux à risques et de leurs modalités de traitement (1990), l'embargo sur les produits d'origine bovine en provenance du Royaume-Uni (1996), l'interdiction de tissus à risque dans l'alimentation humaine (1996), la destruction du cerveau et de la mœlle épinière des ruminants adultes (1996), renforcement des mesures d'interdiction des farines animales (1996)...
Pour ce qui concerne le suivi sanitaire, on notera l'inscription de l'ESB sur la liste des maladies obligatoires en 1990, de la tremblante sur celle des maladies contagieuses (1996), l'obligation de déclaration des suspicions de CJD (1996), et la mise en place des réseaux de surveillance.
Pour ce qui concerne la gestion des populations, figure l'obligation d'abattage total des troupeaux atteints d'ESB jusqu'en 2003. Depuis 2003, les troupeaux dans lesquels un cas d'ESB a été détecté ne sont plus systématiquement détruits. Seules la cohorte de naissance (+1an et -1an) du cas et sa descendance sont éliminées. La réglementation prévoit l'élimination des ovins atteints de tremblante dans les troupeaux présentant une forme sporadique de la maladie, ou l'abattage de cohortes de naissance, voire du troupeau entier, dans le cas de troupeaux présentant une forme enzootique de la maladie. Depuis 2002, un programme national de lutte génétique contre la tremblante basé sur la sélection d'animaux résistant à cette pathologie est coordonné par le ministère en charge de l'Agriculture. Ce plan de 5 ans bénéficie d'un soutien financier de 15 millions d'euros. Des dispositions semblables ont été prises au Royaume-Uni et aux Pays-Bas. Issue des discussions d'experts, la réglementation européenne prévoit la généralisation de la démarche d'ici quelques années.

Photo : VIM-INRA-Jouy

Détection de la protéine prion pathologique, par migration en gel (Western blot) d'un échantillon d'homogénat de cerveau, ou par analyse d'une coupe de cerveau (histoblot) (non infecté versus infecté).

Analyse de la réponse en termes de recherche et des conditions de sa réussite

Jusqu'en 1992, les recherches poursuivies en France sur les ESST étaient le fait d'un petit nombre de laboratoires organisés en un réseau informel. À l'exception du laboratoire de Dominique Dormont [2] (CEA/Fontenay-aux-Roses), peu d'équipes de recherches s'intéressaient aux études fondamentales sur les maladies à prions. Les scientifiques tentaient notamment d'apporter des réponses aux problèmes posés par la transmission iatrogène [3] de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (hormone de croissance contaminée). À partir de 1991, les chercheurs INRA du département de Génétique animale se sont intéressés à la tremblante ovine qui posait de réels problèmes de santé animale dans le sud-ouest de la France (environ 75% des cas de tremblante concernent la race Manech Tête Rousse élevée dans le Pays Basque) et qui sévissait de façon spectaculaire dans un troupeau ovin de l'INRA. L'annonce du 20 mars 1996 par les autorités du Royaume-Uni que 10 Britanniques venaient de succomber à une variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob liée à l'ESB, a entraîné une crise de confiance sans précédent des consommateurs. L'ensemble de la communauté scientifique a été interpellée et sollicitée pour participer aux efforts de recherche en la matière. En France, cela s'est traduit, dès l'automne 1996, par une sensibilisation des chercheurs (Journées de Bougival) et la mise en place des premiers appels d'offres.

L'observation rétrospective des efforts consentis et des résultats obtenus par les équipes des principaux organismes de recherche (CNRS, INSERM, CEA, AFSSA, INRA), montre le succès de cet appel. À l'INRA, une vingtaine d'équipes ont accepté d'apporter leur contribution, rassemblant une centaine de chercheurs travaillant (le plus souvent à temps partiel) sur ce sujet. Parmi les résultats scientifiques les plus significatifs auxquels a contribué l'INRA figurent :

- l'exploration sur différents modèles de la variabilité phénotypique des souches naturelles de prions qui apportera une meilleure compréhension de l'évolution de ces pathogènes au sein des populations humaines et animales (Hubert Laude et collaborateurs)
- la connaissance fine de la cinétique d'apparition de la protéine prion pathologique dans les différents tissus de l'organisme lors de l'infection du mouton par l'agent de la tremblante qui permet une meilleure compréhension de la pathogénie *in vivo*, de l'influence des différents génotypes de la protéine PrP et l'objectivation de la notion de tissus à risque (Olivier Andreoletti et collaborateurs).
- une contribution significative à la connaissance des effets des variants du gène PrP sur la sensibilité à la tremblante chez les ovins qui est à la base du plan

[2] Décédé en novembre 2003 (voir *INRA mensuel* n°118, décembre 2003).

[3] Maladie provoquée par un acte médical.

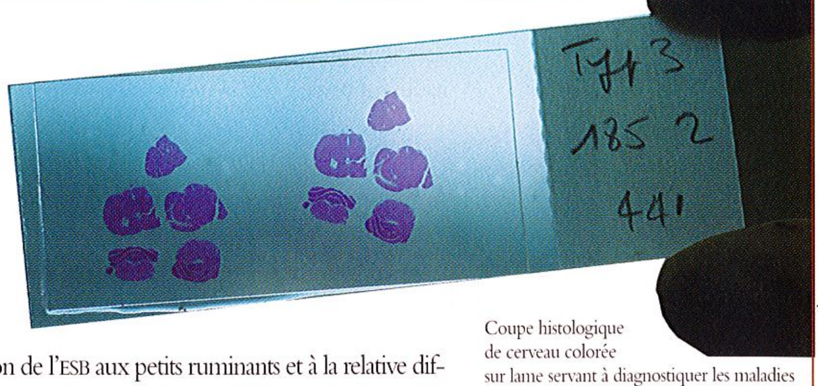
national de contrôle et d'éradication de la tremblante reposant sur la sélection d'animaux résistants. (Nombreuses équipes concernées).
Ces recherches sont développées dans le chapitre 5• concernant les recherches menées à l'INRA.

Face à une émergence, cet engagement de l'INRA, et plus largement de l'ensemble du dispositif de recherche français, a été soutenu par une convergence de forces :

- une demande sociétale très forte et médiatisée, associée à la conviction profonde de pouvoir "apporter quelque chose" grâce à un ensemble de savoir-faire disponibles
- le pouvoir attractif d'une question biologique tout à fait originale et excitant la curiosité scientifique (trois prix Nobel ont été attribués à des chercheurs travaillant sur le prion), notamment des virologistes dont certains pensent encore que les prions, sur la nature physique desquels subsiste une part d'incertitude, pourraient bien en fin de compte être des virus classiques
- une organisation et des moyens considérables mis en place
- une demande de l'INRA pour des réorientations thématiques de certaines équipes.

- Structures spécifiques

Des structures spécifiques ont été créées, aux niveaux national et européen.
Lorsque, en 1996, il s'est avéré que la "maladie de la vache folle", apparue en 1985 au Royaume-Uni, s'était probablement transmise à l'homme, le gouvernement français a réuni un Comité interministériel d'experts (CIM, plus connu sous le nom de comité Dormont), de manière à le conseiller dans les différentes options de gestion du risque et pour piloter le développement de la recherche dans ce domaine. Ce comité mis en place sous la tutelle des ministères de la Santé, de l'Agriculture et de la Recherche, a pris en charge de nombreux aspects touchant à l'alimentation. Il a également dû gérer des questions sur les risques liés à certains médicaments dérivés de tissus humains, et sur des pratiques hospitalières. En 1999, trois agences ont été créées pour institutionnaliser l'expertise (AFSSA, AFSSAPS et InVS). À partir de juin 2001, l'AFSSA s'est dotée de son propre comité d'experts spécialisés (CES ESST) dans lequel un nombre important de membres du CIM a siégé. Parallèlement, l'animation de la recherche a été transférée du CIM au GIS "infections à prions". L'analyse et la gestion du risque iatrogène ont été développées de son côté par l'AFSSAPS Les missions du CIM ont donc été reprises par des structures plus spécialisées (Agences, GIS). Ceci a également été contemporain d'un transfert progressif des interrogations scientifiques des bovins aux petits ruminants, compte tenu 1•de la maîtrise progressive des risques provenant des bovins par des moyens combinant tests rapides et retrait des matériaux à risques (MRS) 2•des interrogations sur la transmission de l'ESB aux petits ruminants et à la relative difficulté ou au coût de mise en place d'outils de maîtrise (tests, MRS) ainsi qu'à l'existence d'une sélection génétique possible.



Coupe histologique de cerveau colorée sur lame servant à diagnostiquer les maladies à prions.

Photo : Christian Slagmulder

- Moyens financiers

Des moyens financiers considérables ont été alloués aux travaux sur les ESST : gouvernement français, Union européenne, INRA [4].
L'INRA a complété ces dotations par 1,3 million d'euros ciblés sur des actions relevant plus spécifiquement de la recherche agronomique et qui n'avaient pas reçu de soutiens externes.

- Animation scientifique

Une animation scientifique ambitieuse a permis de sensibiliser les chercheurs aux ESST, à mettre en contact les équipes de différentes disciplines autour d'objets de recherche et de favoriser leur collaboration. Des réseaux ont été créés par la Commission européenne. Le CIM a organisé une série de rencontres (les "journées de Bougival") sur des thèmes successifs alors que le GIS réunit régulièrement les équipes de recherches qu'il soutient financièrement. L'INRA a tenu plusieurs séminaires internes de quelques jours rassemblant les scientifiques investis sur le sujet.

- Outils et plateformes

Un effort particulièrement conséquent a été fait sur le développement et la mise en commun **"d'outils" et de plateformes** technologiques. L'outillage concernait les systèmes cellulaires capables de multiplier des prions d'espèces naturellement infectées, protéines recombinantes de différents allèles de la protéine de prion ovine et anticorps correspondants, souris transgéniques plus réceptives que les souris conventionnelles, le typage moléculaire à très grande échelle du gène PrP. Les limitations des outils existants ou leur absence ont été perçues à juste titre par les chercheurs comme un frein puissant à l'avancement des recherches sur les ESST touchant les ruminants. Ce n'est que dans une deuxième phase que les outils ainsi développés ont pu être utilisés avec profit à des fins plus cognitives. Les tests immunologiques développés par le CEA et commercialisés par Biorad font partie des grandes avancées nationales sur le plan technologique. Cet effort sur les plateformes concerne aussi la mise en place d'animaleries protégées de grandes tailles

[4] Le gouvernement français a confié au CIM puis au GIS le soin de financer les équipes de recherche pour un total de 40 millions d'euros. L'Union européenne a financé 54 projets pour un montant de 50,7 millions d'euros de 1996 à 1998 (FAIR, BIOMED, BIOTECH...), 26 projets pour un montant global de 30 millions d'euros entre 1998 et 2002 (5ème PCRD) et 15 projets en 2003 pour un montant de 21 millions d'euros. Un réseau d'excellence consacré aux recherches sur les prions est financé par le 6ème PCRD pour un montant de 15 millions d'euros. Entre 1992 et 2003, sur 92 projets directement ou indirectement concernés par les maladies à prions, la France et l'Angleterre ont respectivement coordonné 23 et 22 projets. Depuis 1997, l'INRA a participé et participe à 18 projets (7 projets coordonnés) qui ont représenté un montant global d'environ 35 millions d'euros.

pouvant héberger des espèces modèles (souris) et agronomiques (ruminants), et ouvertes à la communauté nationale.

Améliorer notre réactivité aux émergences

La réaction des organismes publics (de recherche et de gestion du risque sanitaire) face à l'émergence des ESST est une expérience (positive et négative) dont nous pouvons tirer quelques enseignements, en termes de recherche, d'organisation de l'expertise et des relations entre ces deux formes de réponse.

- Dans le domaine de la recherche

Le premier enseignement est la nécessité de disposer d'une organisation initiale offrant une palette de compétences disciplinaires et de dispositifs partagés, cette organisation devant présenter des capacités d'adaptation avérées, notamment dans l'acquisition de compétences et d'outils nouveaux. Cette stratégie dans laquelle la création de "l'outillage" fait l'objet d'un investissement initial important semble avoir été payante.

• La reconnaissance de l'excellence scientifique

La capacité à réagir rapidement à des événements sanitaires nouveaux est très dépendante de l'excellence académique et disciplinaire des équipes concernées. Les approches génériques d'amont rendent plus facile l'étude d'objets variés que les approches appliquées. Ces compétences disciplinaires doivent être maintenues à un niveau compétitif et reconnu permettant d'aborder différents agents pathogènes potentiels. Cela suppose aussi un panel de compétences de base qu'il faut maintenir malgré un intérêt agronomique qui peut paraître non immédiat : pour les maladies animales, c'est le cas notamment en parasitologie, entomologie médicale, virologie...

La mobilisation de la communauté scientifique peut résulter de ré-orientations thématiques. Ainsi la forte mobilisation des virologistes pour la tremblante trouve ses explications dans leur savoir-faire scientifique et méthodologique reconnu (ingénierie génétique de la cellule, biologie cellulaire, immuno-technologie), et dans leur curiosité vis-à-vis de l'agent pathogène des ESST qui continue à faire l'objet d'une polémique entre les partisans (nombreux) de la théorie du prion (protéine seule) et ceux qui pensent qu'il s'agit d'un virus. La reconnaissance des équipes s'est exprimée tout d'abord par la forte implication dans les contrats européens obtenus, puis dans les publications qui n'ont été produites qu'après un temps de latence conséquent. Ainsi, les premières publications dans des revues de rang A sont parues en 2004 pour un engagement thématique entrepris en 1998. Les ré-orientations thématiques doivent donc se faire de façon limitée dans des équipes ayant une fluidité permise par l'excellence scientifique et la masse critique. Elles doivent s'accompagner par un soutien institutionnel, les chercheurs mettant en cause leur devenir scientifique. À titre d'exemple, si l'implication de l'INRA dans la recherche sur les ESST a été une réussite attestée par l'implication dans la communauté scientifique, cela s'est traduit par l'abandon d'une thématique sur les coronavirus, qu'il a fallu assumer en 2003 au moment de l'émergence du SRAS [5].

L'activité scientifique disciplinaire peut être l'occasion d'un repliement de communauté. Il est donc essentiel d'organiser les interactions et le dialogue entre les différents acteurs de la recherche et de les soutenir par des actions incitatives et des réseaux (bureau national INRA des EST, exemple du GIS prion, ressources et réseaux européens). Dans le cas du prion, les collaborations entre pathologistes et généticiens ont été particulièrement fécondes (concrétisées par des publications) compte tenu du caractère très intime des relations entre statut génétique de l'hôte et expression de la pathogénie, qui sont aussi à la base de la mise en place d'une politique de maîtrise de la tremblante efficiente sur le terrain.

• Un certain nombre de disciplines indispensables

L'organisation doit donner une place reconnue à la **recherche clinique** et une reconnaissance académique (formation) à l'**anatomie pathologique** qui est souvent la première exploration organique, tissulaire et cellulaire d'événements pathologiques nouveaux. La **pathologie comparée et expérimentale** est indispensable à l'identification des maladies émergentes.

Le cas des ESST a été particulièrement illustratif de l'importance de ces approches, pour éclairer une démarche étiologique efficace et rapide qui suppose aussi des phases expérimentales (reproduction de la maladie, observation fine de la physiopathologie). Elles ont aussi permis la mise en place d'un réseau de collecte de données pertinentes pour apporter des réponses épidémiologiques à l'émergence et aux méthodes de prévention et de contrôle de la nouvelle occurrence.

La définition de critères de diagnostics, en particulier sur le plan des symptômes, des lésions et des modifications biologiques ou fonctionnelles **et l'identification de nouvelles entités nécessitent une compétence et une large culture en anatomie pathologique**. De cette description, sont issus des critères d'inclusion et d'exclusion qui permettent un diagnostic répétable et différentiel. Les ESST sont avant tout définies par leurs caractéristiques lésionnelles microscopiques : dégénérescence vacuolaire des neurones, gliose avec astrocytose et vacuolisation du neuropile [6]. La fréquence et la répartition des lésions élémentaires sont propres à chaque maladie. La mise

[5] Syndrome respiratoire aigu sévère dont l'agent est un coronavirus.

[6] **Tissu glial :** composante majoritaire du cerveau, il comprend 3 types cellulaires, (les astrocytes, les oligodendrocytes et la microglie). Les astrocytes assurent le couplage énergétique entre les capillaires cérébraux et les neurones, ils régulent l'espace synaptique et participent à la neuroprotection. Les oligodendrocytes produisent la gaine de myéline.
La microglie est impliquée dans les processus inflammatoires.
Astrocytose : prolifération des astrocytes (cellules du cerveau constituant le tissu nerveux) produisant une cicatrice gliale et pouvant engendrer des dégâts tissulaires.
Gliose : processus pathologique de prolifération de cellules gliales en réponse à une lésion du système nerveux.
Neuropile : structure nerveuse constituée de l'enchevêtrement de neurites (prolongements des corps cellulaires des neurones formant les dendrites et les axones) qui établissent des synapses.

en évidence de l'ESB a été fondée sur sa description neuropathologique [1], complétée par la suite par les pathologistes cliniciens et histopathologistes, notamment en vue de la détection [2]. Les techniques de détection de la PrPres, beaucoup mieux adaptées à de grandes séries d'analyses et plus précocement positives, ont actuellement supplanté l'examen histopathologique, qui reste toutefois considéré comme une technique de confirmation des suspicions cliniques. Rappelons que chez l'homme, l'identification du nouveau variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (nv-MCJ) est issue des particularités cliniques et lésionnelles de cette nouvelle entité, par rapport aux MCJ sporadiques [3].

Une **description précise de la maladie à l'échelle tissulaire et cellulaire** suggère des hypothèses sur les modalités de dissémination du processus infectieux dans l'hôte et sur la transmission entre individus. Lors de tremblante naturelle, le choix judicieux des génotypes PRP des ovins, combiné avec le statut infectieux des animaux, et une analyse immuno-histochimique des tissus fœtaux, du placenta, de l'utérus et du nouveau-né, ont permis de mieux comprendre les mécanismes de transmission périnatale. La différence d'accumulation de la PrPsc s'explique par la nature de la structure histologique placentaire infectée, qui est le trophoblaste d'origine fœtale [4].

Les résultats de la recherche clinique contribuent à la prise de décision pour la protection de la santé publique. Ainsi, chez les ovins, la définition des tissus à risque, des conditions d'âge et de génotype PRP pour le retrait de la consommation humaine, s'est appuyée sur des études réalisées à partir d'animaux exposés naturellement. L'évaluation des protocoles d'assainissement se situe enfin dans le champ de la recherche clinique.

Les reproductions expérimentales de la maladie sont une composante essentielle de la recherche clinique pour éclairer et valider des hypothèses étiologiques et continuent d'être indispensables pour valider ou invalider certaines hypothèses. La collecte d'échantillons, en relation avec des tableaux cliniques et lésionnels bien décrits est utile à la réalisation de travaux plus fondamentaux. La reproduction de troubles cliniques par inoculation intracérébrale d'un isolat d'ESB à des ovins ARR/ARR (porteurs homozygotes de l'allèle de résistance à la tremblante du gène PRP), a permis d'évaluer les limites de la résistance de ce génotype aux agents d'EST [5]. L'inoculation de matériel infectieux à des souris, des ovins ou des bovins a permis la mise en évidence de la diversité des souches de tremblante [6] et d'ESB [7].

Au final, l'organisation des disciplines et des compétences ne peut être envisagée qu'au niveau européen, et pas simplement national. Toutefois, les outils du 5ème PCRD restent des projets de collaboration ponctuels entre équipes. À l'inverse, les outils du 6ème PCRD engendrent en sus des structures nationales, une administration supra-nationale extrêmement lourde dont l'efficacité reste encore à démontrer. La coordination des recherches nationales en matière d'épidémiologie, de maladies infectieuses et de santé publique vétérinaire serait un garant d'une plus grande efficacité. Une telle organisation suppose un outil spécifique comme un ERANET.

Structure tri-dimensionnelle de la protéine à prion. Représentation schématisée, d'après Riek *et al*, 1996, (*Nature*, vol 382, pp 180-182).



Auteur : Samuel Roux

- Dans le domaine de la recherche en épidémiologie et la surveillance

L'**épidémiologie** est une discipline indispensable pour évaluer rapidement les conséquences potentielles liées à l'émergence d'une maladie ; ce qui n'a pas été correctement réalisé en France pour l'ESB. Elle doit permettre :

• d'étudier l'incidence de la maladie, son évolution temporelle et sa distribution spatiale. Il s'agit d'analyser si l'on se trouve face à une émergence, de la quantifier, de prévoir sa dynamique, de faire des hypothèses sur ses déterminants ; le cas échéant, d'analyser l'efficacité de mesures de lutte mises en œuvre

• d'analyser les facteurs de risque, les sources de contamination.

La réussite de l'approche épidémiologique pour évaluer rapidement les conséquences potentielles d'une émergence pathologique et analyser ses déterminants, dépend de plusieurs facteurs combinés :

• la disponibilité de tests rapides, très spécifiques (compte tenu de la très faible incidence de la maladie), capables d'analyser un très grand nombre d'échantillons de façon fiable

• la capacité de surveillance et de détection des maladies émergentes, liée directement à l'existence de systèmes de vigilance, d'alerte et de mesure basés nécessairement sur un tissu de collaborations impliquant les intervenants de terrain, les pouvoirs publics et les scientifiques à même d'analyser l'information collectée. L'apparition de l'ESB était attendue sur le territoire français, étant donné sa présence au Royaume-Uni ; mais quelle aurait été notre capacité à l'identifier rapidement si les premiers cas étaient apparus en France ?
• la collaboration active au sein de ce réseau et entre disciplines scientifiques pour caractériser la maladie dans un but de détection, de dépistage ou de diagnostic. À titre d'exemple, seule l'arrivée des tests dits rapides a permis d'avoir une estimation correcte de l'incidence de l'ESB et d'obtenir des données non biaisées indispensables pour des études épidémiologiques analytiques
• la complémentarité nécessaire entre épidémiologie de terrain et modélisation, celle-ci permettant d'aborder l'estimation et l'analyse des paramètres non estimables biologiquement. Ceci a été particulièrement le cas en matière d'ESB pour estimer l'âge à la contamination, la durée d'incubation, et l'ampleur de l'épidémie passée inaperçue.

L'analyse épidémiologique précoce des émergences pathologiques supposerait un réseau opérationnel liant acteurs de terrain, pouvoirs publics et scientifiques, qui n'existe pas réellement en France aujourd'hui, mais qu'il est possible de mobiliser, avec du retard, en cas de nécessité. Elle repose aussi sur un réseau d'équipes spécialisées en épidémiologie ayant une masse critique suffisante, maîtrisant parfaitement approche de terrain et modélisation mathématique. En France, les équipes de recherche en épidémiologie sont encore de taille réduite par rapport aux pays européens les plus dynamiques en la matière (Royaume-Uni, Pays-Bas, Danemark) mais les émergences successives notamment celle des ESST, ont été un élément déterminant pour une dynamique vers des équipes de recherche spécialisées en épidémiologie.

Par ailleurs, il convient de faciliter les contacts entre la recherche et la surveillance pour deux raisons majeures :
• pour rendre compatibles l'observation détaillée de cas et la gestion du risque. Cette association entre épidémiologistes académiques, gestionnaires du risque et acteurs de la surveillance a un coût qui doit être prévu dans l'économie des polices sanitaires
• pour profiter des avancées les plus nouvelles des recherches en matière de diagnostic (exemple du réseau de typage, des tests biochimiques, des histopathologies). Cela suppose une organisation qui nourrisse les laboratoires de références par la recherche.

On notera que la crise de l'ESB a été l'occasion d'une prise de conscience de l'importance du lien entre gestionnaires du risque, recherche et expertise, se traduisant par des conventions formelles sur l'échange d'informations et de produits biologiques entre la DGAL, l'INRA et l'AFSSA.

La **surveillance devrait être organisée au niveau européen** (les agents infectieux ne connaissent pas les frontières). C'est dans cet esprit qu'a été constitué le réseau d'excellence du 6ème PCRD, Med Vet Net, coordonné par l'AFSSA et regroupant un nombre conséquent d'agences au niveau européen.

- Dans le domaine de l'expertise et l'analyse de risque

L'expertise collective a été profondément renouvelée à l'occasion de l'étude de ces maladies (comité Dormont, CES de l'AFSSA, Working Group Européen). Cette expertise pour l'appréciation des risques est un exercice spécifique nécessitant une organisation dédiée et professionnelle. Elle suppose le rassemblement de compétences multiples et complémentaires, l'indépendance et la transparence. Elle a acquis un statut social (légitimité, crédibilité) et un statut juridique. Ces caractéristiques imposent une distinction entre les acteurs : recherche, surveillance, agence et expertise, gestionnaire du risque. La reconnaissance scientifique étant essentielle à la crédibilité de l'expertise, la qualité scientifique des équipes est garante de leur capacité à apporter les réponses demandées pour la gestion des risques.

Sur le plan de l'organisation, la création des agences (AFSSA et EFSA) a été une réponse institutionnelle au traitement des risques induits par l'émergence de nouvelles maladies humaines et animales (dont les maladies à prions). Nous sommes mieux armés pour collecter les informations, déclencher les expertises (pour l'appréciation des risques et au-delà, leur gestion), susciter des actions de recherche.

L'institutionnalisation de l'expertise au sein d'agences a fourni des gages de transparence des avis scientifiques (obligation d'expertise de tout nouveau texte réglementaire ayant un impact en santé publique ou animale, publicité des avis). Elle a également fourni à l'expertise des moyens de fonctionnement permettant une relative focalisation des experts sur une problématique scientifique.
Il reste par ailleurs au moins deux enjeux :
• le premier est celui de l'expertise européenne au sein de l'EFSA : jusqu'à présent, l'articulation avec les agences nationales n'a pas été trouvée (travail partagé, à l'image de l'agence européenne du médicament ? travail concentré au plan européen ?), conduisant à des risques d'expertise redondante, voire, à nouveau, contradictoire
• le second est l'identification de l'endroit où doit se conduire l'analyse de "second niveau", c'est-à-dire la

confrontation de l'analyse scientifique avec la définition du risque acceptable : au sein des agences (avec quelle légitimité), par le pouvoir politique (à condition d'en assumer le risque politique, voire judiciaire), au sein d'un "deuxième cercle" impliquant des acteurs de la "société civile" ?

Ce dernier enjeu est au cœur du rapport sur le principe de précaution de Geneviève Viney et Philippe Kourilsky. Le 29 mars 1999, Lionel Jospin leur avait adressé une lettre de mission leur demandant de clarifier *"le sens et la portée du principe de précaution au regard de l'état du droit"* et de préciser *"ses conséquences potentielles au regard du développement de la science et de ses applications, ainsi que des régimes de responsabilité"*. Il leur était demandé de proposer *"des principes de réflexion et d'action assortis de dispositifs juridiques, susceptibles d'améliorer la préparation et le suivi des décisions que les pouvoirs publics ont à prendre ainsi que l'information des citoyens"*. Le 29 novembre 1999, G.Viney et P. Kourilsky remettent leurs conclusions [7] dont une large part est consacrée à l'organisation d'une expertise crédible et efficace pour faire du principe de précaution "*une véritable règle d'action*" (p. 60). La recherche d'un formatage d'une expertise sur les risques permettant aux décideurs politiques de "*précéder les crises plutôt que les suivre*" est au cœur du modèle proposé par les auteurs. L'expertise doit être organisée en deux cercles. Un premier cercle de spécialistes a pour mission de conduire une analyse scientifique et technique en graduant les hypothèses de risque potentiel sur un problème donné. Un deuxième cercle - composé de représentants du premier cercle, d'économistes et de représentants des administrations et des citoyens - débat des conclusions du premier et complète l'analyse scientifique par une analyse économique et sociale. "*Les conclusions des deux cercles, aussi consensuelles que possible, mais comportant les avis contradictoires confirmés, seront transmises aux décideurs*" (p. 69).

Les maîtres-mots de l'organisation de ce modèle sont du côté des décideurs, efficacité et crédibilité de l'action publique afin de gérer le plus possible de problèmes à froid ; et du côté des experts mandatés, indépendance et transparence de l'expertise pour garantir sa fiabilité. Le modèle en deux cercles implique une chronologie de l'action qui accorde l'antériorité à la science pour la stabilisation d'hypothèses sur la possibilité de risques plausibles mais non avérés. Le cadrage scientifique constitue le noyau dur du bon cadrage et au deuxième cercle échoit la délimitation de seuils d'acceptabilité sociale et économique des mesures envisageables.

Si l'on met en perspective le comité Dormont (et le comité d'expert de l'AFSSA) avec le modèle d'expertise en deux cercles proposé par G.Viney et P. Kourilsky, on constate des similitudes de conceptions de l'exercice de l'expertise entre le premier cercle de leur modèle et le comité.

Conclusion

En conclusion, les principaux enseignements que l'on peut tirer de l'émergence des maladies à prions chez les animaux de rente dans les années 1990 sont les suivants :

- les émergences ou ré-émergences pathologiques restent une constante du paysage sanitaire européen, d'autant plus que celui-ci s'élargit à de nombreux pays de l'Est. Ces émergences posent parfois des questions dont la recherche doit se saisir rapidement
- le dispositif de recherche doit pouvoir disposer d'un panel de scientifiques dans des disciplines et des approches reconnues par leur excellence, dont l'épidémiologie, la pathologie et l'anatomie pathologique, la recherche clinique. Cela suppose aussi une capacité de mobilité thématique des scientifiques, dont l'opportunité doit être évaluée, et qui doit être soutenue institutionnellement. L'organisation des équipes doit permettre cette fluidité : masse critique des équipes, environnement technologique et disponibilité de dispositifs lourds partagés, capacité de recrutement de chercheurs contractuels
- la capacité de réaction est largement dépendante des moyens mis en œuvre et de leur facilité d'utilisation
- des liens entretenus et formalisés entre recherche, acteurs de terrain, agences d'expertise et gestionnaires du risque sont les garants d'une bonne réactivité face aux questions scientifiques posées. ■

Jean-Michel Elsen, directeur scientifique Animal et Produits animaux et *Gilles Aumont*, chef du département de Santé animale, avec l'aide de *Jacques Grassi*, CEA, *Marc Eloit*, ENVA, *François Schelcher*, ENVT, *Hubert Laude*, INRA, *Élisabeth Remy*, INRA et *Christian Ducrot*, INRA

[7] Kourilsky P., Viney G. (2000), *Le principe de précaution*, Paris, Éditions Odile Jacob.

[1] Spastic Syndrome in a Holstein Bull: a histologic Study. Wells GA, Hawkins SA, O'Toole DT, Done SH, Duffell SJ, Bradley R, Hebert CN, *Vet Pathol.* 1987 Jul;24(4):345-53.

[2] Bovine Spongiform Encephalopathy - Aspectsof the Clinical Picture and Analyses of possible Changes 1986-1990. Wilesmith JW, Hoinville LJ, Ryan JBM, Sayers AR, *Vet Record* 130 (10): 197-201 Mar 7 1992 ; Diagnostic Reliability of Clinical Signs in Cows with suspected Bovine Spongiform Encephalopathy. Braun U, Schicker E, Hornlimann B, *Vet Rec.* 1998 Jul 25;143(4):101-5.

[3] A new Variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. Will RG, Ironside JW, Zeidler M, Cousens SN, Estibeiro K, Alperovitch A, Poser S, Pocchiari M, Hofman A, Smith PG, *Lancet* 347 (9006): 921-925 Apr 6 1996.

[4] Accumulation in Placentas of Ewes exposed to natural Scrapie: Influence of foetal PrP Genotype and effect on Ewe-to-Lamb Transmission. Andreoletti O, Lacroux C, Chabert A, Monnereau L, Tabouret G, Lantier F, Berthon P, Eychenne F, Lafond-Benestad S, Elsen JM, Schelcher F. *J. Gen Virol.* 2002 Oct;83(Pt 10):2607-16.

[5] Prion diseases: BSE in sheep bred for Resistance to Infection. Houston F, Goldmann W, Chong A, Jeffrey M, Gonzalez L, Foster J, Parnham D, Hunter N, *Nature* 423 (6939): 498-498 May 29 2003.

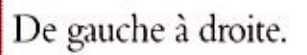
[6] Cases of Scrapie with unusual Features in Norway and Designation of a new type, Nor98 Benestad SL, Sarradin P, Thu B, Schonheit J, Tranulis MA, Bratberg B, *Vet Record* 153 (7): 202-+ Aug 16 2003.

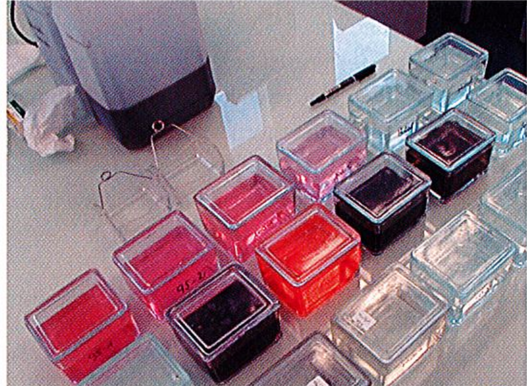
[7] Identification of a second bovine amyloidotic Spongiform Encephalopathy: Molecular Similarities with sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease, Casalone C, Zanusso G, Acutis P, Ferrari S, Capucci L, Tagliavini F, Monaco S, Caramelli M, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (9): 3065-3070 Mar 2 2004.



Photo : Jean Weber

Prélèvement d'un échantillon bactériologiquement contaminé dans un poste de sécurité microbiologique (PSM). Expérimentateur avec protection maximale (niveau III) : combinaison, gants, lunettes, bottes et masque.







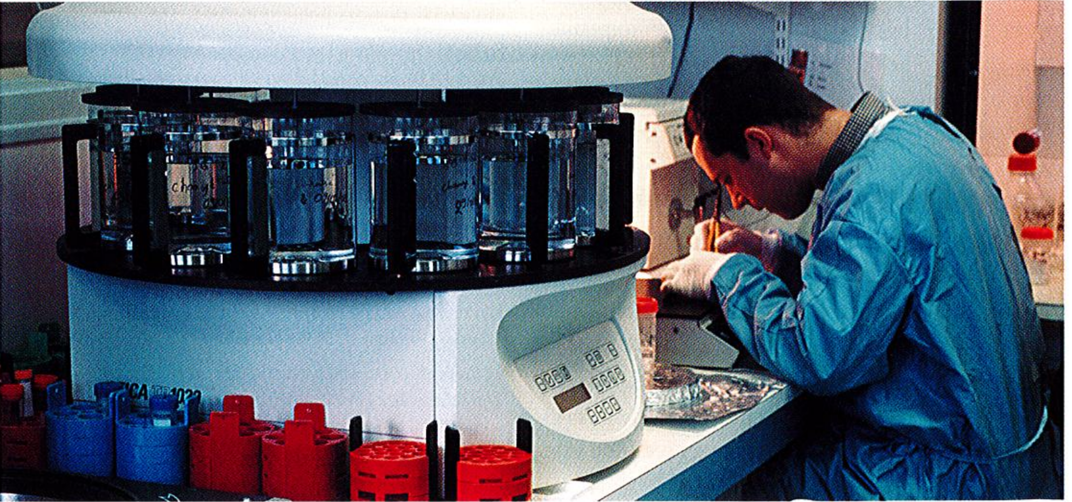
Photos : Christian Slagmulder

De gauche à droite.
• Bains utilisés pour le déparaffinage (toluène ou xylène), la réhydratation (alcool) et la coloration de lames destinées à des observations histologiques de tissus atteints de maladie à prions.
• Automate d'inclusion utilisé sur des tissus (moutons, souris) atteints de maladies à prions.

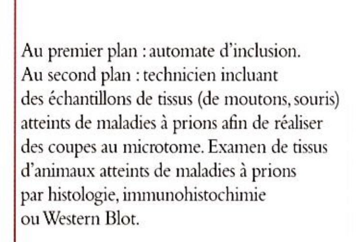




De gauche à droite.
• Au premier plan : le pupitre de contrôle de l'installation, un PC portable de supervision. Outils utilisés pour le traitement thermique des effluents. En arrière plan : un opérateur dans une salle de niveau III
• Coupe de bloc de paraffine dans lequel est inclus un échantillon de tissu atteint de maladie à prions. Les tranches sont réalisées à l'aide d'un microtome puis déposées sur des lames.

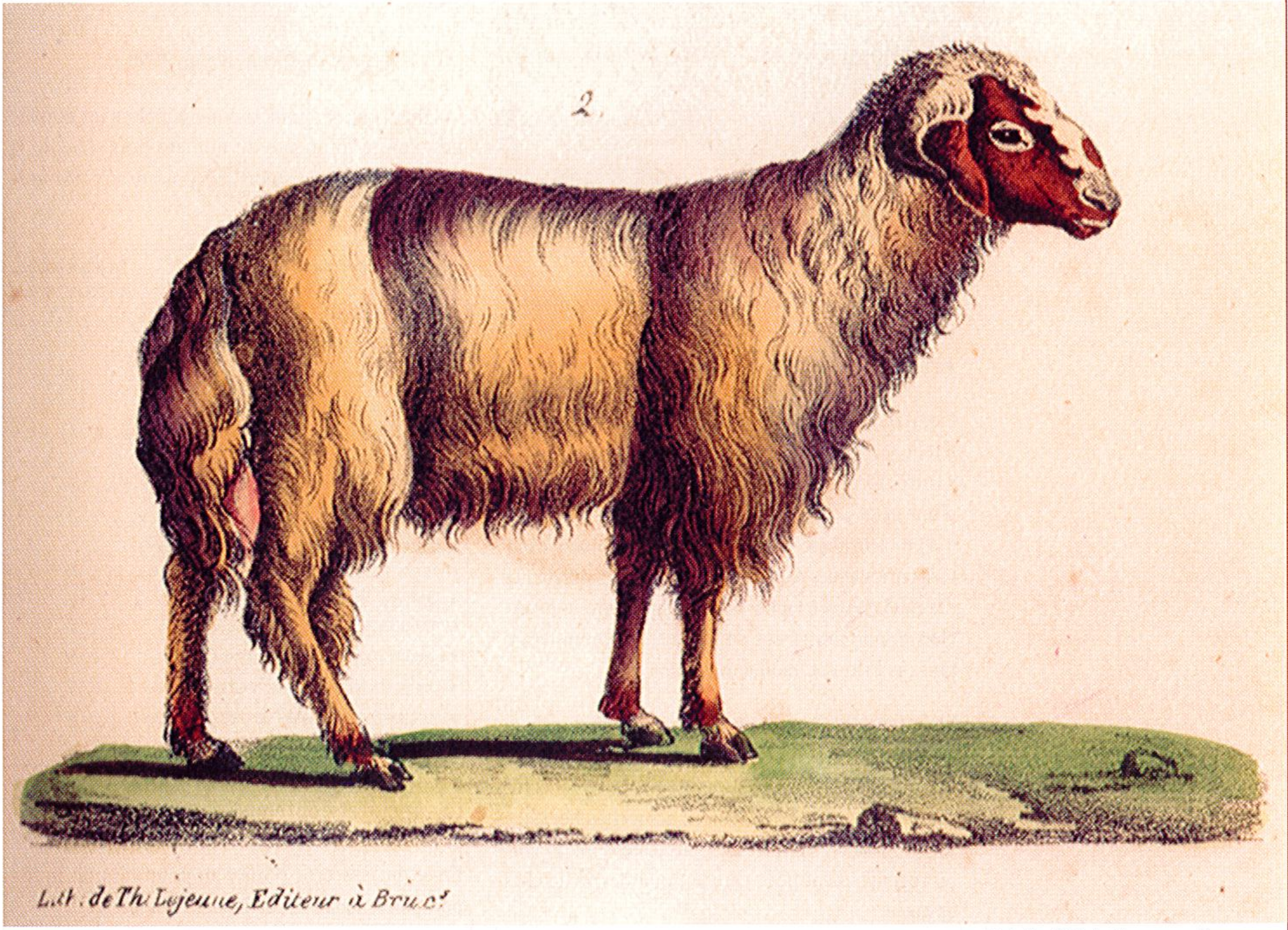


Au premier plan : automate d'inclusion. Au second plan : technicien incluant des échantillons de tissus (de moutons, souris) atteints de maladies à prions afin de réaliser des coupes au microtome. Examen de tissus d'animaux atteints de maladies à prions par histologie, immunohistochimie ou Western Blot.



5. Recherches sur les maladies à prions

moyens, activités et résultats obtenus par l'INRA



Le bélier de Tunis. Œuvres complètes de Buffon suivies de ses continuateurs : Daubenton, Lacépède, Cuvier, Duméril, Poiret, Lesson et Geoffroy-Saint-Hilaire. Planches, tome IV, mammifères, Bruxelles. Ed. Th. Lejeune, 1833.

L'INRA mobilisé

Dès 1990, le secteur des Productions animales alerte sur l'épizootie Encéphalopathie Spongiforme Bovine en Grande-Bretagne : un texte de Jacques Laporte fait le point, en juillet, sur cette maladie ; une réunion INRA-CNEVA est organisée en septembre par Robert Ducluzeau à ce sujet.

En 1991, sollicités par les éleveurs de la race ovine Lacaune dont certains élevages de sélection étaient atteints de tremblante, puis confrontés en 1993 à une épidémie spectaculaire de cette pathologie dans un de ses troupeaux ovins expérimentaux, les chercheurs INRA du département de Génétique animale réfléchissaient aux conditions de développement de recherches dans ce domaine pour eux nouveau, celui des maladies à prions. L'évaluation de la situation sur le terrain, de l'état des recherches en France et à l'étranger, de l'état des connaissances sur ces maladies décidait l'INRA à centrer ses efforts sur la **tremblante ovine** [1].

À partir de l'automne 1996, sous l'impulsion majeure du comité interministériel sur les maladies à prions animé par Dominique Dormont [2] (auquel huit chercheurs INRA participaient), l'INRA a accompli un effort intense de mobilisation de ses équipes (appartenant à 6 départements : génétique animale, santé animale, physiologie animale, transformation des produits animaux, hydrobiologie et faune sauvage, économie et sociologie rurales) sur les ESST chez les ovins, grâce à quelques recrutements mais surtout par mobilité thématique ; ce qui a représenté pour chacun des chercheurs concernés un effort personnel de remise en cause, les obligeant à repartir de zéro dans un domaine totalement nouveau, en abandonnant des recherches en cours où ils étaient opérationnels et bénéficiaient d'un positionnement national et international. Un premier séminaire sur les ESST a été organisé en novembre 1996 par François Grosclaude, alors directeur scientifique des Productions animales, pour renforcer la coordination et l'optimisation du dispositif, ainsi qu'un comité scientifique de l'action incitative programmée sur les ESST.

[1] Voir *INRA mensuel* :
- n°51 juillet 1990 "Mise au point sur l'encéphalopathie spongiforme bovine" par Jacques Laporte
- n°88 avril 1996 "L'encéphalopathie spongiforme bovine : note d'information" par Jean-Marie Aynaud
- n°91 janvier-février 1997 "Les encéphalopathies spongiformes des ruminants" par Jean-Marie Aynaud et François Grosclaude
- n°108 janvier 2001 "À propos des farines animales" par Claude Calet
- n°111 mai-juillet 2001 "Des aliments d'une autre farine" par Michel Lessire
- n°112 décembre-2001 janvier 2002 "Infections à prions" par Didier Levieux

[2] Décédé en novembre 2003 (voir *INRA mensuel* n°118, décembre 2003).

Laboratoire confiné de niveau III dédié à l'étude des maladies à prions.



Photo : Christian Slagmulder

En septembre 1998, un premier recensement à l'INRA faisait état de 26 équipes engagées sur des recherches sur les maladies animales à prions.

Cette mobilisation a été favorisée par 3 facteurs différents, évoqués plus haut :
• la très forte demande sociétale résultant des effets d'une crise sanitaire sans précédent
• la problématique "prions" qui a profondément excité la curiosité des chercheurs de disciplines différentes
• la mise en place rapide de nouveaux moyens financiers importants : INRA en interne, interministériels puis GIS Prions, Union européenne.

Depuis fin 2002, un bureau permanent des recherches ESST [3] a été mis en place par la direction scientifique Animal et Produits animaux, pour réfléchir aux priorités et aux orientations des recherches INRA sur les maladies à prions. Des séminaires sont organisés régulièrement pour faire le point des recherches engagées.

Prise de sang sur moutons infectés par l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine (ESB) en bergerie confinée A3. Étape n°1.

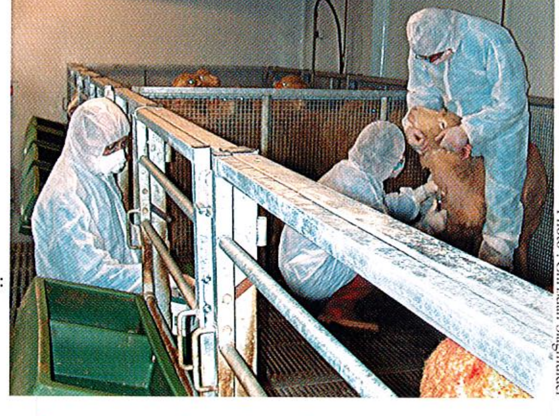


Photo : Christian Slagmulder

Les projets de recherche sur les maladies à prions

De 1996 à 1998, l'objectif prioritaire de l'INRA, dans le cadre de cette nouvelle orientation, a été surtout la **mise au point de tous les outils et investissements nécessaires à la manipulation des prions en toute sécurité et au développement de projets de recherches** ambitieux sur ces maladies à prions. Cet effort se poursuit avec notamment la réalisation des projets de P3 gros animaux de Nouzilly et d'animalerie protégée de l'ENV Toulouse.

Actuellement 36 projets sont coordonnés par l'INRA et 3 nouveaux soumis à l'appel d'offres 2003 du GIS Prions ont été retenus pour financement après évaluation, soit 39 recherches en cours. L'INRA a été impliqué comme coordinateur et/ou comme partenaire dans 18 projets européens depuis 1998.

Les thématiques abordées couvrent plusieurs domaines (voir le sommaire du numéro hors série de la revue "Productions animales" consacré aux ESST animales 2004).

Domaine thématique	Projets identifiés en cours (nombre)
• Biosécurité du lait	1
• Biosécurité de la transfusion sanguine	1
• Molécules à effet thérapeutique	2
• Modèles cellulaires et modèles souris sur la propagation des prions	6
• Biologie moléculaire et cellulaire de l'infection à prions	5
• Physiopathologie	1
• Caractérisation des "souches" de prions isolées en France sur le terrain (recherche de l'ESB ovine)	2
• Génétique et sélection en vue du contrôle et de l'éradication de la tremblante	5
• Épidémiologie de la tremblante et de l'ESB	9
• Rôle des facteurs de l'environnement	2
• Biosécurité et retraitement des farines animales	4
• Expertise et décision	1

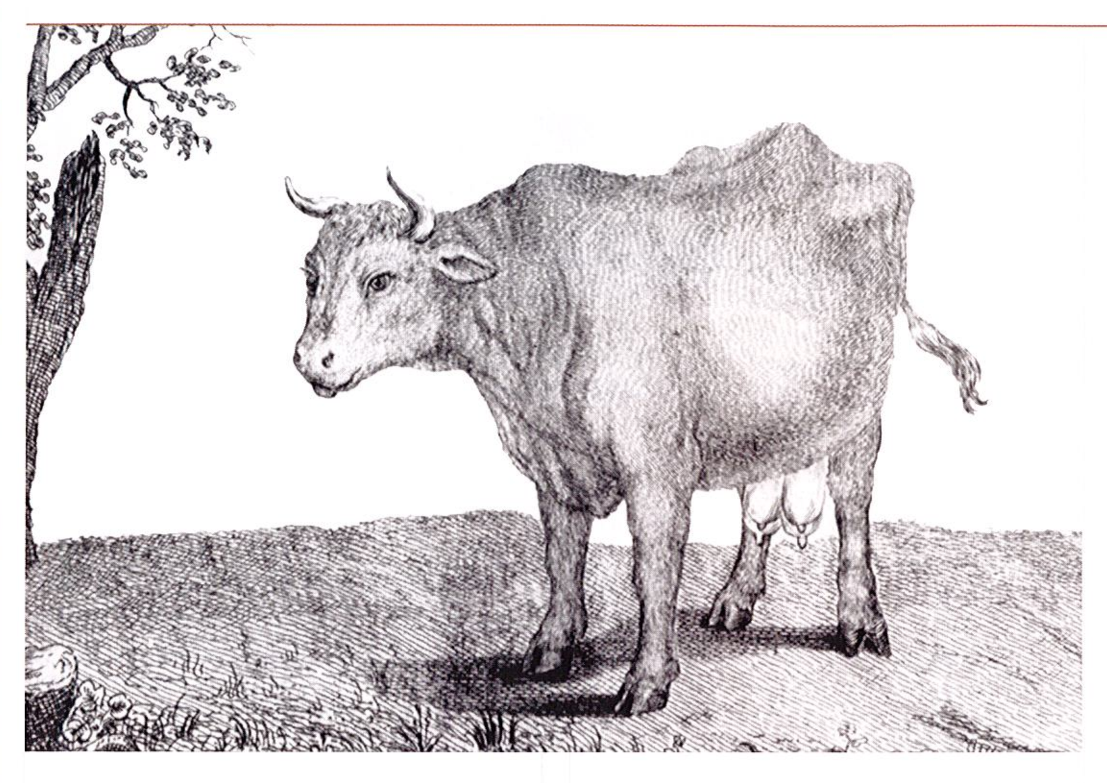
Les résultats obtenus

En ce qui concerne la **mise au point d'outils indispensables**, il faut en particulier retenir :
• des anticorps monoclonaux spécifiques de la protéine prion, susceptibles de nombreuses utilisations ou applications
• des modèles animaux pour l'inoculation expérimentale dans des conditions très contrôlées : modèle murin, modèle ovin
• des souris transgéniques rendues beaucoup plus réceptives à l'infection par le prion (incubation plus courte),
• des lignées de cultures cellulaires sensibles à l'infection *in vitro* par les prions
• la mise au point de protéine prion ovine recombinante
• la mise au point d'approches épidémiologiques adaptées
• le typage moléculaire à très grande échelle du gène PrP [4]
• toute la logistique appropriée pour la manipulation des prions en toute sécurité au laboratoire et dans les animaleries (souris et gros animaux).

Des **projets de recherches** ont été développés à l'aide de ces outils afin de mieux comprendre la maladie et l'agent qui en est responsable. Ils ont abouti à des résultats qui ont fait l'objet de publications scientifiques : 80 dans des revues internationales de niveau A depuis 1995. Parmi les nombreux résultats déjà obte-

[3] **Membres du bureau permanent des ESST :** H. Laude, F. Schelcher, O. Andreoletti, T. Haertlé, F. Barillet, J.L. Vilotte, D. Dupont, J.L. Gatti, A. Duittoz, F. Lantier, P.B. Joly, Ch. Ducrot, J.M. Aynaud.
Chefs de Département : G. Aumont, B. Boichard, J.C. Labadie, P. Chemineau, D. Herpin.

[4] Le gène PrP possède un polymorphisme qui est lié à la variabilité de la sensibilité aux encéphalopathies spongiformes chez l'homme, la souris et les ovins notamment. Chez les ovins, les animaux homozygotes pour l'une des formes de ce gène, ARR/ARR, sont considérés comme pleinement résistants à la tremblante. L'INRA a activement participé à cette observation.



Traité des plantes et animaux décrits par Geoffroy Médecin, dessinés d'après nature par Mr de Garsault. Ed. P.F. Didot le Jeune. Tome V. 1767.

nus, trois peuvent être signalés compte tenu de leur originalité et de leur importance pour les applications potentielles :

• l'exploration sur différents modèles de la variabilité phénotypique des souches naturelles de prions qui apportera une meilleure compréhension de l'évolution de ces pathogènes au sein des populations humaines et animales (Hubert Laude et collaborateurs)

• la connaissance fine de la cinétique d'apparition de la protéine prion pathologique dans les différents tissus de l'organisme lors de l'infection du mouton par l'agent de la tremblante qui permet une meilleure compréhension de la pathogénie *in vivo*, de l'influence des différents génotypes de la protéine PrP et l'objectivation de la notion de tissus à risque (Olivier Andreoletti et collaborateurs)

• une contribution significative à la connaissance des effets des variants du gène PrP sur la sensibilité à la tremblante chez les ovins qui a conduit les chercheurs INRA de Toulouse à proposer à la Direction générale de l'Alimentation du ministère en charge de l'Agriculture **un plan ambitieux de contrôle et d'éradication de la tremblante dans les troupeaux français.** Ce plan repose sur la détection et l'élimination des béliers reconnus génétiquement sensibles à la tremblante et leur remplacement par des béliers reconnus génétiquement résistants. Ce plan qui a été adopté par la DGAL et les éleveurs est en cours de réalisation sur le terrain en France. L'éradication totale de la tremblante ovine en France est une perspective raisonnable pour l'avenir. Des dispositions semblables ont été prises au Royaume-Uni et aux Pays-Bas. Issue des discussions d'experts, la réglementation européenne prévoit la généralisation de la démarche d'ici quelques années.

Les scientifiques impliqués ont maintenant acquis une compétence valorisée à plusieurs reprises dans des activités d'expertise, en particulier pour participer à des comités d'experts et à des commissions d'évaluation de projets soumis à des appels d'offres au niveau français et surtout au niveau européen. ■

Jean-Michel Elsen et *Jean-Marie Aynaud*,
Direction scientifique Animal et Produits animaux.

Les Encéphalopathies Spongiformes Transmissibles animales
numéro hors série de *Productions animales*, 2004 , 134 p.

Avant-propos

Introduction générale
• Organisation à l'INRA des observations et expérimentations sur des animaux modèles ou agronomiques infectés par une Encéphalopathie Spongiforme Transmissible. *J.-M. Elsen et al*
• Diversité des souches d'Encéphalopathie Spongiforme Transmissible chez les ruminants : enjeux, bilan et perspectives. *P. Sarradin, H. Laude*

Chapitre 1 : **Pathogénie des Encéphalopathies Spongiformes Transmissibles**
• Pathogenèse des Encéphalopathies Spongiformes Transmissibles : apports du modèle ovin. *F. Schelcher et al*
• Pathogenèse des Encéphalopathies Spongifonnes Transmissibles : apports des modèles cellulaires. *D. Vilette, H. Laude*

Chapitre 2 : **La protéine prion cellulaire (PrPc) : propriétés et rôle physiologique**
• Approche physicochimique de la structure de la protéine prion PrPc : Plasticité conformationnelle de peptides de la région 121-170 (H1-S2) de la protéine prion ovine. *C. Lepage et al*
• Lien entre type génétique et résistance des ovins à la Tremblante : une approche structurale et physico-chimique. *H. Rezaei et al*
• Approche immunochimique de la structure de la protéine cellulaire PrPc ovine. Caractérisation d'anticorps discriminant les glycoformes et les allèles de la protéine Prion chez le mouton. *M. Moudjou et al*
• Recherche d'un rôle physiologique pour la protéine prion cellulaire (PrPc). *J.-L. Gatti et al*
• Variabilité génétique de la résistance aux Encéphalopathies Spongiformes Transmissibles chez l'animal. *J.-L. Vilotte*
• Épidémiologie de la tremblante et de l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine en France. *C. Ducrot et al*

Chapitre 3 : **Lutte contre les EST animales. Les moyens mis en œuvre**
• Le diagnostic des encéphalopathies spongiformes chez les ruminants. *F. Lantier et al*
• Le programme français d'éradication de la tremblante du cheptel ovin fondé sur l'utilisation de la génétique. *F. Barillet et al*
• Absence d'efficacité de la quinacrine dans le traitement des maladies à prions : possible explication à caractère pharmacologique. *N. Picard-Hagen et al*
• Utilisation des micro-organismes dans l'hydrolyse des amyloïdes et l'hydrolyse des farines animales. *K. Tsiroulnikov et al*
• Destruction des farines animales : Valorisation des fractions lipidiques en biolubrifiants et additifs biocarburants et du résidu protéique (ou de l'ensemble) pour la fabrication de matériaux polymères. *Z. Mouloungui et al*

Annexes
• Liste des publications scientifiques réalisées par les équipes INRA engagées dans des projets sur les maladies à prions
• Bilan de l'animation scientifique et de la coordination des recherches mises en place à l'INRA depuis 1990
• Recherches menées en collaboration au sein de l'Union européenne : liste des 18 projets européens dans le domaine des EST animales impliquant l'INRA comme coordinateur ou comme partenaire.

Autres équipes concernées

D'autres équipes INRA travaillent sur certains des thèmes abordés dans ce dossier mais avec des approches différentes de celles de la santé animale *(source CompAct)*. Nous remercions Claude Gaillardin, chef du département Microbiologie et chaîne alimentaire, pour sa relecture, ses corrections et sa validation.

- Épidémiologie d'entités pathologiques potentiellement zoonotiques

• recherches en épidémiologie animale et en économie de la santé animale : évaluation des risques sanitaires et aide aux décisions de gestion de la santé : UMR 708 Gestion de la santé animale INRA-ENVN, Nantes, département Santé animale

• modélisation de l'évolution d'une pathologie animale au cours du temps afin de comprendre, prévoir et contrôler la maladie : UR 341 Mathématiques et informatique appliquées MIA, Jouy-en-Josas, département Mathématiques et informatique appliquées

- *Escherichia coli*

• "Pouvoir Pathogène des *E. coli* et Risque Zoonotique" : deux objectifs généraux ; d'une part la détermination des bases moléculaires de la virulence des *Escherichia coli* responsables d'infections intestinales et extra-intestinales chez les animaux de rente, en particulier chez les ruminants. D'autre part, la caractérisation génotypique des souches d'*E. coli* entérohémorragiques (EHEC) responsables de toxi-infections alimentaires, et la mise en place de stratégies permettant de limiter leur portage asymptomatique par les ruminants, UR 454 Microbiologie MICA, Theix, départements Microbiologie et chaîne alimentaire-Santé animale (MICA-SA)

• pathogénie bactérienne intestinale : USC 2018 université Clermont 1-Soutien INRA, MICA

• mécanismes de pathogénie, biodiversité, épidémiologie : UMR 1225 Interactions hôtes-agents pathogènes IHAP INRA-ENVT, Toulouse, MICA-SA

- *Listeria*

• étude des risques bactériologiques éventuels des aliments dont la *Listeria* : UMR 1014 Sécurité des aliments (ENVN) analyse du risque et épidémiologie, Nantes, MICA

• physicochimie des surfaces des bactéries pathogènes, *Listeria monocytogenes* : UR 763 Bioadhésion et hygiène des matériaux, Jouy-en-Josas, MICA



• appréciation du risque microbiologique dû à la présence et au développement de bactéries pathogènes dans les nouveaux aliments prêts à l'emploi : *Listeria monocytogenes* est étudiée dans les produits consommés crus : UMR 408 Sécurité et qualité des produits d'origine végétale, université d'Avignon-INRA Avignon, MICA/CEPIA (cette unité ne travaille presque plus sur *Listeria* mais surtout sur *B. cereus*)

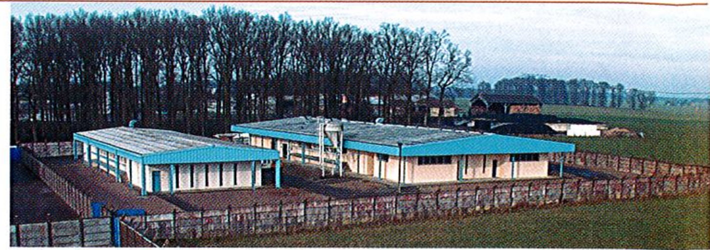
• étude des mécanismes d'adaptation de bactéries, dont *E. coli*, aux stress obtenus par les procédures de nettoyage/désinfection (froid, sel...) dans les ateliers de fabrication des aliments, notamment d'origine carnée (formation de bio films...) : UR 370 Viande, mécanismes de survie et de formation de biofilms, Clermont-Ferrand-Theix, MICA-CEPIA

• mécanismes de pathogénie et de dissémination de *L. monocytogenes* : USC 2020 Interaction bactéries-cellules (UIBC) Institut Pasteur-Soutien INRA, MICA

- *Salmonella*

• comprendre les bases biologiques de la qualité des produits avicoles (viande et œufs) pour la maîtriser par voie génétique ou par l'élevage : identification des gènes de résistance au portage des Salmonelles : UR 83 Recherches avicoles, Tours, départements Génétique animale/Physiologie animale et systèmes d'élevage

• survie et portage : UMR 1253 Science et technologie du lait et de l'œuf (STLO) INRA-Agrocampus Rennes, MICA-CEPIA



Unité expérimentale Pathologie Infectieuse et Immunologie : zone confinée. Vue générale de la zone.

Photo : Christian Slegmulder

• facteurs de virulence, portage : UR 918 Pathologie infectieuse et immunologie Tours, MICA-SA

- Staphylocoques

• expression des toxines, biodiversité : UMR 1253 Science et technologie du lait et de l'œuf (STLO) INRA-Agrocampus Rennes, MICA-CEPIA

• pouvoir pathogène, biodiversité : UR 888, Recherches laitières et génétique appliquée (URLGA) Jouy-en-Josas, MICA

- Maladie de Crohn

• recherches sur la flore intestinale de l'homme, notamment sur les maladies inflammatoires de l'intestin : UMR 910 Écologie et physiologie du système digestif (UEPSD) Jouy-en-Josas, MICA

- Leishmaniose et toxoplasmose

• étude *in vivo* et *in vitro* des mécanismes immunologiques qui déterminent la résistance ou la sensibilité à des infections avec des parasites intracellulaires que sont les Leishmanies et les Toxoplasmes : USC 2010 Réponses immunes précoces et immunopathologie des parasitoses intracellulaires (RPPI), Institut Pasteur-INRA Jouy-en-Josas, Santé animale.



Préparation du milieu de culture Rambach, utilisé pour le diagnostic différentiel des salmonelles. Boîtes de Pétri remplies de milieu de culture dans un distributeur de milieu gélosé.

Photo : Christian Slegmulder

- Autres

• étude de divers facteurs environnementaux existant dans les régions tropicales (Afrique, Amérique du Sud, Asie) déterminant la survenue d'affections chez l'être humain, notamment au cours du vieillissement, selon trois thématiques dont une approche en pathologie infectieuse en particulier parasitaire : EA 3174, USC INRA, Écologie des interactions trématodes-digènes-mollusques, université de Limoges.

Travailler sur les zoonoses

des contraintes réglementaires fortes, des mesures de prévention

Comme le soulignent tous les textes de ce dossier, les recherches sur les zoonoses exigent des conditions de travail extrêmement rigoureuses. Ce document ne saurait évoquer les zoonoses sans rappeler :

• les textes réglementaires et la veille dont ils font l'objet

• la prévention indispensable

- La veille réglementaire

engagée par le département de Santé animale dans le cadre de la plate-forme d'infectiologie expérimentale.

L'expérimentation en santé animale est un domaine où le risque biologique (zoonoses, manipulation d'agents pathogènes de niveau 3, exigences de confinement...) est élevé et où l'activité est soumise à des contraintes réglementaires fortes.

La Plate-forme d'infectiologie expérimentale [1], dans le cadre de son activité au niveau national et de son projet de certification, s'engage dans un processus de veille réglementaire en y associant les autres unités expérimentales du département de Santé animale [2].

Cette veille est une activité volontaire qui permet de suivre les évolutions de la réglementation pouvant avoir une incidence sur l'activité et le mode de fonctionnement d'une organisation. Elle doit permettre de mieux identifier les points sensibles et les risques de l'activité, de prendre les décisions en toute connaissance de cause et de mieux dialoguer avec les pouvoirs publics et les clients de la PFIE.

Ce projet s'appuie sur la mutualisation des compétences et des ressources disponibles au sein de ces unités ainsi que sur le développement d'un dispositif interactif.

D'ici fin 2005, ce dispositif, accessible à partir du site web du département Santé animale [3], permettra :

- de mettre à disposition une source unique, exhaustive et actualisée de textes réglementaires,
- de mutualiser les compétences et les ressources disponibles dans ce domaine,
- d'enrichir et d'alimenter la base de données par des contributions collectives.

Cette veille s'inscrit dans les différents dispositifs d'aide à la prévention des risques au sein de l'INRA.

Marie-Colette Fauré, Céline Housseau,
Santé animale, Centre INRA de Tours

[1] PFIE du Centre de Tours : regroupement de l'UE PAP (Pathologie Aviaire et de Parasitologie), de l'UE PII (Pathologie Infectieuse et Immunologie), et de la future INPREST (Installation Nationale Protégée pour la Recherche sur les Encéphalopathies Spongiformes Transmissibles)

[2] l'UE Animalerie Rongeurs et l'UE Piscicole du centre de Jouy-en-Josas

[3] http://www.inra.fr/Intranet/Departements/SA/index.html

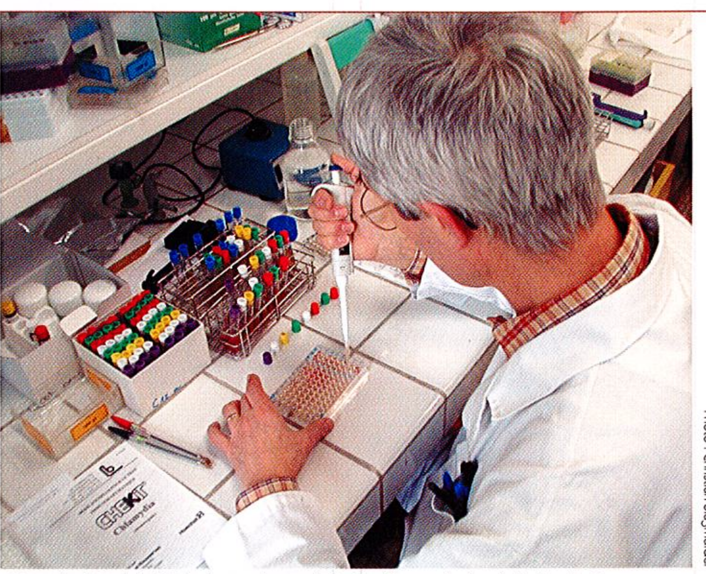


Photo : Christian Slagmulder

Laboratoire de Pathologie Infectieuse et Immunologie. Test d'immunologie : distribution de sérums dans une plaque de microtitration à l'aide d'une micropipette (Chlamydiose).

- La prévention du risque biologique dans les laboratoires à l'INRA

Les recherches sur les zoonoses exposent de fait les équipes engagées dans ces travaux aux dangers inhérents aux agents biologiques manipulés. Le risque biologique est le plus souvent lié à un mécanisme infectieux, mais certains agents biologiques sont également susceptibles de provoquer des allergies ou des intoxications.

Les agents biologiques sont classés en 4 groupes [4] en fonction de l'importance du risque infectieux qu'ils présentent [5].

À ces groupes correspondent des niveaux de confinement [6] (niveau 2, 3 ou 4) applicables aux installations dans lesquelles sont manipulés les agents biologiques pathogènes : pour les laboratoires, mesures de confinement L2, L3 ou L4, et pour les animaleries, A2, A3 ou A4. Le niveau 4 n'est pas pratiqué à l'INRA.

La maîtrise du risque biologique est assurée par l'application rigoureuse des règles de biosécurité [7]. Les mesures de prévention et de protection sont définies sur la base d'une évaluation des risques qui s'appuie entre autres sur le classement des agents pathogènes. Au travail, la transmission d'agents biologiques se fait à partir d'un réservoir de germes et peut s'effectuer de différentes manières : en portant les mains ou un objet à la bouche, par projection dans les yeux, en se blessant (piqûre, morsure, écorchure, coupure, ...), en ne protégeant pas une blessure existante, en respirant de fines particules en suspension dans l'air (aérosols). Le risque de contamination dépend de la concentration en agent pathogène, cette dernière variant selon l'agent biologique en cause, le type d'animal ou matériel biologique manipulé, la nature des tissus ou fluides infectés. Deux éléments sont donc fondamentaux : la notion de réservoir de germes et le mode de transmission (contact cutané, projections, inhalation d'aérosols, ...). L'évaluation des risques s'effectue sur des tâches élémentaires permettant d'identifier les phases de travail pour lesquelles il existe des barrières entre le réservoir de germes et le personnel et celles où l'exposition est possible : les mesures de prévention et de protection, tant techniques qu'organisationnelles, visent alors à supprimer ou minimiser cette exposition. Afin d'aider les unités dans l'évaluation du risque biologique, un **guide de la prévention** "risque biologique pour l'homme" et une **méthode d'évaluation du risque** infectieux dans les laboratoires, ont été développés à l'INRA. Ces outils sont disponibles auprès de la Mission centrale prévention.

Des vaccinations, lorsqu'elles existent, sont proposées par le médecin de prévention. Être vacciné ne doit pas faire oublier l'importance des règles de prévention et de sécurité, pour sa propre sécurité, celle de son entourage et celle de l'environnement.

D'autres risques sont fréquemment associés, en laboratoire, au risque biologique. C'est le cas, par exemple, du risque chimique avec l'utilisation possible de produits mutagènes, cancérogènes ou toxiques pour la reproduction, dont la prévention ne doit pas être oubliée.

Par ailleurs, à l'échelle nationale, la commission de génie génétique émet des prescriptions techniques de prévention et de confinement pour les laboratoires et les animaleries notamment dans le cas de manipulations des OGM. Elle a édité un guide "Principes de classement et guide officiel de la Commission de génie génétique", disponible sur son site internet, qui est un outil de référence.

Pascale Coppin,
Déléguée nationale prévention

[4] **groupe 1** : agents biologiques non susceptibles de provoquer une maladie chez l'homme ;
groupe 2 : agents biologiques pouvant provoquer une maladie chez l'homme et constituer un danger pour les travailleurs ; leur propagation dans la collectivité est peu probable ; il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace ;
groupe 3 : agents biologiques pouvant provoquer une maladie grave chez l'homme et constituer un danger sérieux pour les travailleurs ; leur propagation dans la collectivité est possible, mais il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace ;
groupe 4 : agents biologiques qui provoquent des maladies graves chez l'homme et constituent un danger sérieux pour les travailleurs ; le risque de leur propagation dans la collectivité est élevé ; il n'existe généralement ni prophylaxie, ni traitement efficace.

[5] Seul le risque infectieux lié au caractère pathogène de l'agent biologique pour l'homme, détermine son classement. Les risques allergiques et toxiques sont mentionnés, lorsqu'ils existent, dans la liste des agents biologiques pathogènes (arrêté du 10/07/94 modifié).
http://www.inra.fr/Intranet/Departements/SA/documents/agents-biologiques-a19980630.xls ou http://www.inra.fr/Intranet/Departements/SA/nouveautes.html

[6] Cf. arrêté du 13.08.96

[7] Cf. Code du travail, section VI - prévention du risque biologique

Pour en savoir plus

- Schéma stratégique de département 2004-2007, département de Santé animale, Gilles Aumont, Pascal Boireau, Bernard Charley, PL Toutain, mars 2004
- La Microbiologie à l'INRA, analyse réalisée par Pascale Cossart, M. Dron, Martine Moulin-Schouleur, 28 décembre 2001, rapport final, 31 p.
- Rapport Santé animale, Paul-Pierre Pastoret, 2003
- Zoonoses, Editions Office International des Epizooties, 3 volumes, 1982, 1989, 2005. www.oie.int
- Histoire de la surveillance et du contrôle des maladies animales transmissibles, J. Blancou, 2000, OIE, 366 p., 45€

REVUES

- *Veterinary Research* voir page 9 du dossier "zoonoses" pour les numéros spéciaux
- *Productions animales* voir page 49 du dossier "zoonoses" pour le numéro hors série sur les Encéphalopathies spongiformes transmissibles animales
- ESB. Radioscopie d'une tourmente : témoignages et analyses, Y. Le Pape, Y. Kerveno, R. Mer, S. Le Perchec, 2004, *Les dossiers de l'environnement de l'INRA*, n°28, 190 p. 26€.



De gauche à droite : **Manuel de santé**, Albucasis, *Tacuinum Sanitatis*, Allemagne, Rhénanie, XVe siècle. Paris, BNF, département des Manuscrits occidentaux. **Femme donnant à manger à ses poules**, Ibn Butlân, *Tacuinum Sanitatis*, Allemagne, Rhénanie, 3e quart du XVe siècle. Paris, BNF, département des Manuscrits, Latin 9333, fol. 63. **Oiseaux**, Barthélémy l'Anglais. Livre des Propriétés des Choses. Moyen âge. Paris, BNF, département des Manuscrits occidentaux. ©BNF

Responsables scientifiques du dossier : Gilles Aumont, Jean De Rycke, Jean-Michel Elsen
avec la collaboration de Jean-Pierre Lafont et Jean-Marie Aynaud
Coordinateurs : Denise Grail, Marc-Antoine Caillaud • Secrétariat : Frédérique Chabrol • chabrol@paris.inra.fr • Conception et réalisation : Pascale Inzerillo • piz@paris.inra.fr
Photothèque : Julien Lanson, Jean-Marie Bossennec, Christophe Maître ainsi que Laurent Cario et Marlène Etienne pour les recherches d'images à Tours

Illustrations de couverture : ©BNF • De gauche à droite : **Noé entrant dans l'arche**, Guiard des Moulins, *Bible historiale*. France, XVe siècle. Paris, BNF, département des Manuscrits, Français 9, fol. 15. "Auprès de Noé, entra dans l'arche une paire de tout ce qui est chair, ayant souffle de vie, et ceux qui entrèrent étaient un mâle et une femelle de tout ce qui est chair, comme Dieu le lui avait commandé". (Genèse, 7, 15). Devant Noé et son épouse, les animaux de la création entrent dans l'arche afin de ne pas être anéantis par le déluge qui doit effacer la corruption de l'humanité. Un renard se faufile entre les pattes d'un couple de chevaux, semblant suivre son compagnon déjà à l'intérieur de l'arche. **Marchand de viande de bœuf**, Ibn Butlân, *Tacuinum Sanitatis*. Allemagne, Rhénanie, XVe siècle. Paris, BNF, département des Manuscrits, Latin 9333, fol. 71v. On a longtemps imaginé que le Moyen Âge se nourrissait d'herbes et de racines et était privé de viande à l'exception de la charcuterie. Il n'en est rien. En dehors des périodes de crises, les derniers siècles du Moyen Âge atteignent des consommations élevées de viande et le bœuf est la viande la plus consommée. Par rapport au veau, le bœuf est une viande de peu de noblesse, aussi est-elle peu représentée dans les livres de cuisine aristocratiques. Elle fait partie des "grosses viandes" en général bouillie. **Cheval**, Chine Xe siecle. Paris, BNF, département des Manuscrits orientaux.**Variétés d'oiseaux**, Barthélémy l'Anglais. Livre des Propriétés des Choses. Moyen âge. Paris, BNF, département des Manuscrits occidentaux. **Paysan trayant une brebis**, Ibn Butlân, *Tacuinum Sanitatis*; Allemagne, Rhénanie, XVe siècle. Paris, BNF, département des Manuscrits, Latin 9333, fol. 57. Le lait n'est pas recommandé par les médecins qui lui reprochent son excessive humidité. Les laitages ne peuvent théoriquement se consommer que les jours gras de l'année, c'est-à-dire ni en carême, ni le vendredi ou le samedi. Difficile à conserver, le lait se consomme le plus souvent sous forme de fromage ou de beurre.

INRA - Mission Communication
147 rue de l'Université • 75338 Paris cedex 07 • Tél. 01 42 75 90 00

Imprimeur : Graph 2000
ISSN 1156-1653 • Commission paritaire : 1799 ADEP